

Série A : 661

N° D'ORDRE :

1407

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR J. SELLIER

CHARGÉ DE COURS A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE BORDEAUX

CHEF DES TRAVAUX DE PHYSIOLOGIE

DIRECTEUR ADJOINT DE LA STATION BIOLOGIQUE D'ARCACHON

MEMBRE CORRESPONDANT NATIONAL DE LA SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE

LAURÉAT DE L'INSTITUT (*Prix Montyon de Physiologie expérimentale*)

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LES FERMENTS PROTÉOLYTIQUES DES INVERTÉBRÉS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 3 avril 1911, devant la Commission d'examen.

MM. DASTRE

Président

MATRUCHOT

GENTIL

} *Examineurs*

BORDEAUX

IMPRIMERIE MODERNE — A. DESTOUT AÎNÉ & C^{ie}

139, Rue Sainte-Catherine & 8, Rue Paul-Bert

1911



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Série A : 661

N° D'ORDRE :

1407

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR J. SELLIER

CHARGÉ DE COURS A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE BORDEAUX

CHEF DES TRAVAUX DE PHYSIOLOGIE

DIRECTEUR ADJOINT DE LA STATION BIOLOGIQUE D'ARCACHON

MEMBRE CORRESPONDANT NATIONAL DE LA SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE

LAURÉAT DE L'INSTITUT (*Prix Montyon de Physiologie expérimentale*)

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LES FERMENTS PROTÉOLYTIQUES DES INVERTÉBRÉS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 3 avril 1911, devant la Commission d'examen.



MM. DASTRE

Président

MATRUCHOT

GENTIL

} *Examineurs*

BORDEAUX

IMPRIMERIE MODERNE — A. DESTOUT AÎNÉ & C^{ie}

139, Rue Sainte-Catherine & 8, Rue Paul-Bert

1911

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

DOYEN	P. APPELL, professeur...	Mécanique rationnelle.
DOYEN HONORAIRE	G. DARBOUX, professeur.	Géométrie supérieure.
PROFESSEURS	}	L. TROOST.
		Ch. WOLF.
HONORAIRES		J. RIBAN.
	LIPPMANN.....	Physique.
	BOUTY	Physique.
	BOUSSINESQ.....	Physique mathématique et calcul des probabilités.
	PICARD.....	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
	H. POINCARÉ.....	Astronomie mathématique et mécanique céleste.
	Y. DELAGE.....	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	G. BONNIER.....	Botanique.
	DASTRE	Physiologie.
	KOENIGS.....	Mécanique physique et expérimentale.
	VÉLAIN.....	Géographie physique.
	GOURSAT.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	CHATIN	Histologie.
	HALLER.....	Chimie organique.
	JOANNIS.....	Chimie (Enseignement P. C. N.).
	JANET.....	Physique.
PROFESSEURS	WALLERANT.....	Minéralogie.
	ANDOYER.....	Astronomie physique.
	PAINLEVÉ.....	Mathématiques générales.
	HAUG	Géologie.
	HOUSSAY.....	Zoologie.
	H. LE CHATELIER.....	Chimie.
	GABRIEL BERTRAND.....	Chimie biologique.
	M ^{me} P. CURIE.....	Physique générale.
	CAULLERY.....	Zoologie (Évolution des êtres organisés).
	C. CHABRIÉ.....	Chimie appliquée.
	G. URBAIN.....	Chimie.
	BOREL	Théorie des fonctions.
	MARCHIS.....	Aviation.
	JEAN PERRIN.....	Chimie physique.
	G. PRUVOT.....	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	N.....	Application de l'analyse à la géométrie.
	N.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	PUISEUX.....	Mécanique et astronomie.
	LEDUC	Physique.
	MATRUCHOT.....	Botanique.
	MICHEL	Minéralogie.
PROFESSEURS ADJOINTS.	HÉROUARD.....	Zoologie.
	LÉON BERTRAND.....	Géologie.
	RÉMY PERRIER.....	Zoologie (Enseignement P. C. N.).
	MOLLIARD.....	Physiologie végétale.
	COTTON	Physique.
SECRÉTAIRE	D. TOMBECK.	

RECHERCHES

SUR

LES FERMENTS PROTÉOLYTIQUES DES INVERTÉBRÉS

INTRODUCTION

Bien que les diastases protéolytiques des Invertébrés aient fourni le sujet de travaux déjà nombreux, bien des points de leur histoire restent indécis, quand les résultats obtenus ne sont pas divergents ou contradictoires. Ceci n'est pas dû seulement à une généralisation trop hâtive des conclusions d'expériences réalisées sur un petit nombre d'animaux et que l'on aurait voulu étendre au vaste ensemble des Invertébrés, car, même quand il s'agit de groupes zoologiques naturels et relativement restreints, l'accord n'est pas fait ; presque tout prête à la discussion.

Nous en citerons seulement deux exemples empruntés à DASTRE (1) qui résume ainsi ce qu'on sait à propos des Crustacés décapodes : « On a discuté sur la nature des ferments protéolytiques : ce serait tantôt de la pepsine agissant en milieu acide, tantôt de la trypsine agissant en milieu alcalin. A défaut de cette hypothèse, il faudrait admettre qu'il s'agit d'une trypsine particulière pouvant agir plus ou moins efficacement en présence d'un léger

(1) Pour la bibliographie des diastases digestives, voir DASTRE, *Physiologie comparée du foie. Dictionnaire de Physiologie*, 1904, p. 802-806.

excès d'acide ou enfin qu'il s'agit d'une protéolyse s'accomplissant dans des conditions différentes de celles des Vertébrés ». D'après le même auteur, le suc digestif des Mollusques céphalopodes n'est guère mieux connu que celui des Crustacés : « Ce liquide contient une diastase analogue à la pepsine et une autre analogue à la trypsine. Il y a quelque incertitude relativement à l'existence prédominante ou exclusive de l'un ou de l'autre de ces ferments ou des deux simultanément ». Cet exposé de la question date de l'année 1904 et il est aussi vrai que le jour où DASTRE le formulait. Malgré les travaux de KRUKENBERG et de FRÉDÉRICQ d'une part, de GRIFFITHS, de CHAPEAUX et de STONE d'autre part, nos connaissances sont aussi indécises relativement aux Vers et aux Echinodermes.

Séduit par l'intérêt du sujet et aussi par les ressources de la Station Biologique d'Arcachon et de son annexe de Guéthary, nous nous sommes proposé, en commençant nos recherches, voici tantôt dix ans, de faire une étude comparative des diastases protéolytiques des Invertébrés et des Poissons marins (1).

Nombreuses sont les classes zoologiques auxquelles nous avons touché et sur lesquelles nous possédons des documents utilisables. Néanmoins, nous nous sommes borné, dans le présent Mémoire, à réunir les expériences faites sur un petit nombre de groupes appartenant aux Invertébrés marins. Le reste suivra. La difficulté ne vient pas seulement, en effet, de l'étendue du sujet ; quand on est maître d'une technique sûre, on en viendrait à bout. Elle provient aussi d'éléments défavorables contre lesquels le travailleur est impuissant et dont les physiologistes qui expérimentent exclusivement sur les animaux dits de laboratoires : Chien, Lapin, Cobaye ou Grenouille ne se font guère l'idée.

Malgré la situation favorable du Bassin d'Arcachon, malgré le dévouement du personnel de la Station Biologique, malgré encore la complaisance désintéressée avec laquelle les bateaux chalutiers des Compagnies de Pêcheries rapportent aux Laboratoires les animaux qui peuvent être utiles, on se trouve parfois privé de matériaux d'étude au moment même où quelques

(1) J. SELLIER, Recherches sur la digestion des Poissons. *Bulletin de la Station Biologique d'Arcachon*, 1899.

individus suffiraient pour terminer une question. C'est que certains animaux arrivent dans le Bassin, ou sur les côtes voisines, à une certaine époque de l'année, pour y séjourner quelques semaines seulement ; des modifications dans leurs migrations ou dans leur abondance changent les conditions de travail ; souvent on a trop d'espèces à la fois et d'autres jours pas assez d'individus, et le physiologiste ne peut, comme le zoologiste, en garder des provisions dans les liquides conservateurs. Il faut compter aussi avec les marées défavorables, les tempêtes inopinées, les mauvais jours de l'hiver, etc. Il est possible que les contradictions de nos devanciers n'aient en partie d'autres causes qu'un séjour trop bref au bord de la mer et le trop petit nombre d'animaux à étudier, tandis que la répétition et le contrôle des expériences nécessitent du temps et des matériaux abondants.

Afin de disposer d'une plus grande quantité de suc digestif à la fois et de pouvoir répéter les expériences pour les contrôler, nous nous sommes adressé à des animaux relativement faciles à se procurer en nombre.

La portion de nos études exposée ici concerne surtout les suivants :

Crustacés décapodes : Crabe Tourteau (*Cancer pagurus*), Araignée de mer (*Maja squinado*), Homard (*Homarus vulgaris*), espèces carnivores.

Mollusques céphalopodes : Calmar (*Loligo vulgaris*), Seiche (*Sepia officinalis*), espèces carnivores.

Mollusques gastéropodes : Aplysie (*Aplysia fasciata*, *Aplysia punctata*), espèces herbivores.

Annélides chétopodes : Aphrodite ou Souris de mer (*Aphrodite aculeata*), espèce carnivore.

Tous ces animaux sont bien connus et les zoologistes ont décrit depuis longtemps l'anatomie et souvent aussi l'histologie de leurs organes. Néanmoins, pour éviter au lecteur de se reporter à des livres spéciaux et pour fixer la position des organes produisant ou renfermant les sucs digestifs, nous avons cru bon d'en donner plusieurs dessins exécutés sur le vivant et sous nos yeux.

Dès le début de notre étude, nous avons constaté que la simple dissolution des substances protéiques par les sucs digestifs, même dans des conditions variées d'expérience, ne peut fournir des résultats suffisamment précis ni même suffisamment constants. La méthode chimique est autrement plus sûre et plus avantageuse puisqu'elle permet de suivre, pour ainsi dire pas à pas, la transformation de la matière à digérer ; nous lui devons nos résultats les plus importants.

La nature et l'état de cette matière à digérer sont susceptibles de modifier beaucoup les limites du phénomène protéolytique. Or, les seuls renseignements connus sont relatifs à la dissolution de l'ovalbumine coagulée ou de la fibrine ; nous ne possédons aucun document sur la digestion des sérums d'Invertébrés habituellement si riches en matières protéiques diverses.

Comme on le verra au cours de ce travail, nos expériences ont été effectuées sur des matières albuminoïdes variés : ovalbumine coagulée, ovalbumine crue, caséine du lait, sérum d'Invertébrés (1).

Dans le Chapitre I nous exposons la technique suivie. Les premiers physiologistes avaient souvent signalé à tort l'existence de tel ou tel ferment protéolytique. Il était donc opportun de rappeler les faits actuellement connus qui, en particulier, caractérisent la pepsine et la trypsine. C'est le but de notre Chapitre II. Nous y avons joint un certain nombre d'expériences personnelles destinées à apporter plus de précision sur certains points.

La détermination défectueuse des réactions chimiques des sucs digestifs avait conduit les auteurs à des conclusions erronées. Le Chapitre III contient nos résultats.

Ces faits étant connus et la méthode bien fixée, le Chapitre IV

(1) Nous avons déjà montré l'action antitryptique et antiprésurante des sérums d'Invertébrés marins :

J. SELLIER, Action antiprotéolytique du sérum sanguin des animaux inférieurs (Poissons et quelques types d'Invertébrés). *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, t. LIX, n° 36, 15 décembre 1903.

Sur le pouvoir antiprésurant du sérum sanguin des animaux inférieurs (Poissons et Invertébrés). *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, t. LX, n° 6, 16 février 1906.

Sur le pouvoir antiprésurant du sérum sanguin des animaux inférieurs. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 12 février 1906, t. CXLII, p. 409.

est consacré à l'étude des phénomènes protéolytiques chez les animaux mentionnés plus haut, et le Chapitre V à celle de l'action éreptique.

La question de la présure est intéressante mais délicate; les documents à son sujet, chez les Invertébrés, étaient rares; le Chapitre VI contient plusieurs faits nouveaux.

Enfin, dans le Chapitre VII, nous recherchons la destination des corps aminés, produits de la digestion protéolytique. L'hépatopancréas des espèces carnivores, et surtout le contenu du cæcum spiral des Céphalopodes, en renferment une teneur élevée.

Les recherches qui font l'objet de ce travail ont déjà donné lieu à la publication de quelques notes préliminaires dans les *Comptes rendus de la Société de Biologie* et dans les volumes de l'Association française pour l'avancement des sciences (1).

(1) J. SELLIER, Existence de la présure dans le suc digestif des Crustacés. *Congrès de l'Association française pour l'avancement des sciences*. Lyon, août 1906.

Existence de la présure dans le suc digestif des Crustacés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 23 novembre 1906, t. LXI.

Existence de la présure chez les Invertébrés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 26 avril 1907, t. LXII.

Action protéolytique du suc digestif des Crustacés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 3 décembre 1907, p. 703.

Action présurante et protéolytique du suc digestif des Céphalopodes. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 3 décembre 1907, p. 705.

Sur l'action protéolytique et présurante des sucs digestifs des animaux invertébrés. *Congrès de l'Association française pour l'avancement des sciences*. Clermont-Ferrand, août 1908.

Sur l'identité du ferment protéolytique et de la présure. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 22 décembre 1908, p. 734.

Quelques conditions réclamées par les sucs digestifs protéolytiques des Invertébrés marins pour la mise en évidence de leur action présurante. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 6 juillet 1909, t. LXVII, p. 237.

CHAPITRE PREMIER

Mesure des processus protéolytiques

Les diverses albumines natives que l'on peut soumettre à l'action des sucs digestifs se différencient à la fois par leur constitution chimique et par leur état physique. Elles sont solides, coagulées, liquides, en suspension ou en solution ; certaines, comme la gélatine, sont liquides ou solides suivant la température.

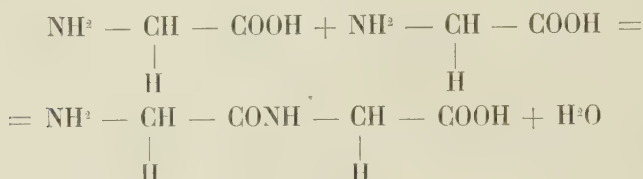
En faisant agir sur ces diverses albumines des sucs digestifs protéolytiquement actifs, on constate des phénomènes de transformation, variables avec chacune d'elles.

Les modifications physiques les plus simples, telles que : dissolution d'une albumine solide ou coagulée, éclaircissement du lait, disparition de la propriété de gélifier de la gélatine liquéfiée, etc., ont longtemps servi comme mesure de la protéolyse. Chez les Invertébrés, ces procédés furent même les seuls employés. Ils sont cependant insuffisants pour la plupart, car ils ne renseignent pas sur la nature de la protéolyse, qui est, avant tout, un phénomène d'ordre chimique.

Les albumines natives sont constituées en grande partie par la liaison, avec perte d'eau, de corps peu complexes : les amino-acides. La protéolyse a pour effet de les dédoubler, de les scinder en corps plus simples pour arriver finalement aux amino-acides, après avoir passé par des stades intermédiaires : protéoses et peptones.

Dans ces derniers temps, les travaux de FISCHER et de son école ont jeté un jour nouveau sur la constitution de la matière albuminoïde. Cet auteur a pu obtenir par synthèse des corps qu'il désigne sous le terme générique de *peptides*, lesquels sont constitués par l'union, avec élimination d'eau, de plusieurs molécules

d'amino-acides. Par exemple, si deux molécules de glycocolle s'unissent, la fonction acide de l'une réagissant sur la fonction amine de l'autre, un nouveau corps se forme, le glycyl-glycocolle, qui sera à la fois amide, acide et amine.



On peut théoriquement, avec n molécules d'amino-acides, former un corps possédant $n - 1$ fonctions amide en conservant libres aux extrémités de la chaîne une fonction acide et une fonction amine ; par exemple :



Ces amides ou peptides, suivant le nombre des molécules d'amino-acides constituants, sont précédés du préfixe di, tri, poly. Ils offrent un grand intérêt au point de vue physiologique, car, d'après FISCHER, le mode de liaison des molécules génératrices dans ces corps et dans les substances protéiques naturelles est le même.

La molécule des polypeptides artificiels hydrolysés par les ferments solubles se scinde à la façon des albumines, si bien que FISCHER a pu dire :

« In ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften, besonders auch in ihrem Verhalten zu Enzymen nähern sich besonders die hochmolekularen Polypeptide einigen natürlichen Proteinen, und wäre man ihnen zuerst in der Natur begegnet, so würde man wohl kein bedenken getragen haben, sie als Proteine anzusprechen » (1).

Depuis la découverte de ces peptides synthétiques, les termes d'albumoses, protéoses, peptones ont perdu de leur signification ; obtenus par digestion peptique ou tryptique, fractionnés par des réactifs divers, alcool, sels métalliques, etc., divisés et subdivisés

(1) E. FISCHER, *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 40, 1737, 1907.

suivant leur degré de solubilité vis-à-vis de certains réactifs en primaire, secondaire (proto, hétéro, deutéro-protéoses, etc.), ces corps tendent à disparaître de la nomenclature ; actuellement, on les considère plutôt comme des groupes de peptides formés d'amino-acides variables par leur nombre et leur nature.

Leur insolubilité dépendrait non point seulement de la complexité du peptide, mais aussi de la nature des amino-acides qui le composent ; les polypeptides à poids moléculaire élevé, par exemple, et aussi ceux qui contiennent de la tyrosine sont, comme les albumoses, précipitables par le sulfate d'ammoniaque, la solution acétique de chlorure de sodium et l'acide azotique. Signalons enfin les propriétés qui rapprochent certains peptides des peptones. Leur saveur n'est pas sucrée comme celle des amino-acides ; elle est amère comme celle des peptones. Ils précipitent par l'acide phosphotungstique. Le tanin précipite ceux à poids moléculaire plus élevé. Enfin, un grand nombre d'entre eux donne la réaction du biuret (1).

Quoi qu'il en soit, la protéolyse apparaît comme essentiellement agissante par la dislocation de la molécule albumine en corps solubles plus simples (albumoses, peptones) avec mise en liberté, dans certains cas, d'amino-acides.

Une méthode rationnelle de mesure des processus protéolytiques sera donc basée sur la détermination des différents stades de transformation de l'azote albuminoïde au cours des actes digestifs.

La technique de cette étude consistera à faire agir le ferment sur l'albumine soluble et non coagulée, condition dans laquelle l'attaque sera maximum. On pourra ainsi se rendre compte facilement des diverses phases de la protéolyse et caractériser les produits de transformation, ce qui était fort difficile avec les anciennes méthodes.

Voici comment nous avons opéré.

On détermine avant et après digestion :

1° La quantité totale d'azote correspondant à tous les corps, albuminoïdes et autres, présents dans le liquide de digestion (N').

2° La quantité d'azote sous forme d'albumine native présente dans les liquides de digestion (N').

(1) RÜHMANN, Biochemie, p. 303.

3° La quantité d'azote sous forme d'albumoses de peptones, ou plus exactement de peptides (N^2).

4° La quantité d'azote sous forme d'amino-acides et d'ammoniaque mis en liberté au cours des processus digestifs (N^3).

Par définition on a :

$$N^1 = N^1 + N^2 + N^3$$

N^2 est fonction de la peptonisation, N^3 de la mise en liberté des amino-acides ou de la fonction éréptique.

EXPÉRIENCE TYPE

Dans un tube à essais stérilisé, on introduit 24 cc. 5 de la solution protéique et 0,5 du suc digestif à étudier. Mélanger et prélever aussitôt (témoin) :

1° 2 centimètres cubes pour le dosage de N^1 .

2° 5 centimètres cubes que l'on additionne immédiatement de son volume d'acide trichloracétique à 10 pour 100 pour le dosage de ($N^2 + N^3$).

3° 5 centimètres cubes que l'on additionne immédiatement de formol neutre au demi pour le dosage de N^2 .

Il reste dans le tube 10 centimètres cubes de liquide que l'on additionne de quelques gouttes de toluol et que l'on met en expérience.

Après digestion. — 5 centimètres cubes servent au dosage de ($N^2 + N^3$) et les derniers 5 centimètres cubes au dosage de N^2 , comme pour le témoin.

Les résultats ont toujours été exprimés en milligrammes d'azote et rapportés à 20 centimètres cubes du liquide de digestion.

DOSAGE DE N^1

1° *Transformation de l'azote en sulfate d'ammoniaque* (Méthode de KJELDAHL). — Les 2 centimètres cubes du liquide de digestion, prélevés comme il a été dit, sont introduits dans un ballon de KJELDAHL de 250 centimètres cubes et additionnés de 5 centimètres cubes d'oxalate de potasse à 30 pour 100, puis de 5 centimètres cubes d'acide sulfurique pur ; chauffer dou-

cement le ballon légèrement incliné jusqu'à dégagement de vapeurs blanches d'acide sulfurique, puis obturer le col du ballon par un petit entonnoir en verre, à extrémité biseautée, afin de condenser ces vapeurs. Le liquide brun, puis jaune, se décolore finalement après un temps variable ; laisser refroidir. La substance organique est détruite. Le carbone a été transformé en CO^2 , l'azote en ammoniacque qui s'unit à l'acide pour donner du sulfate d'ammoniacque. Il reste un excès d'acide sulfurique.

2° *Neutralisation à la phtaléine.* — Dans le ballon de KJELDAHL contenant ce liquide acide on ajoute, en refroidissant, 80 à 100 centimètres cubes d'eau distillée. La solution obtenue est versée dans un matras à fond plat et à col long de 250 centimètres cubes, puis additionnée des eaux de lavage du ballon de KJELDAHL et de quelques gouttes de phtaléine. Neutraliser ensuite par la lessive de soude. Dans cette opération, il est nécessaire de refroidir le matras en le maintenant immergé dans un cristalliseur rempli d'eau. On évite ainsi le dégagement d'ammoniacque. Enfin il faut éviter d'aller au delà de la neutralité. Il est bon de s'arrêter lorsque le liquide est encore légèrement acide et de terminer exactement la neutralisation (coloration rose) avec la soude N/5.

3° *Titrage au formol de l'ammoniacque (Méthode RONCHÈSE).* — Dans ce liquide exactement neutralisé à la phtaléine, ajouter 10 centimètres cubes de formol au demi neutre à la phtaléine, agiter et verser avec la burette graduée de la soude N/5 jusqu'à teinte rose persistante.

Lecture. — Ajouter 5 centimètres cubes de formol neutre. Si la coloration rose a disparu, ajouter de la soude N/5 jusqu'à ce que la teinte rose persiste malgré l'addition d'une nouvelle quantité de formol (5 centimètres cubes) et qu'elle passe au rouge franc par addition d'une ou deux gouttes de soude N/5.

Calcul. — Soit n le nombre total de centimètres cubes de soude N/5, lu à la burette ; 4 centimètre cube de soude N/5 correspond à 2 milligr. 8 d'azote. Nous avons opéré sur 2 centimètres cubes du liquide de digestion. Pour rapporter les résultats à 20 centimètres cubes de ce liquide, nous avons :

$$\text{N}^t = \text{Mgr. N in 20 cc. liquide de digestion} = n \times 2,8 \times 10$$

DOSAGE DE ($N^2 + N^3$)

Nous avons défini ($N^2 + N^3$) comme représentant l'azote des corps non albuminoïdes du liquide de digestion, c'est-à-dire correspondant à l'ensemble, albumoses, peptones, amino-acides, ammoniacque. Il nous suffira de précipiter dans le liquide de digestion les albumines natives, et elles seules, de filtrer, pour obtenir dans le filtrat tous les corps azotés de transformation, c'est-à-dire la somme ($N^2 + N^3$) que nous déterminerons par la méthode de KJELDAHL. Nous avons employé l'acide trichloracétique pour séparer les albumines natives des produits de protéolyse. Ce corps, utilisé par MARTIN (1) pour la recherche des albumoses et peptones, dans le sang, présente de réels avantages. Il doit être préféré au tanin ; celui-ci précipite sans doute totalement les albumines, mais on sait d'autant moins dans quelles proportions il précipite les albumoses et les peptones, que la réaction du milieu peut perturber les résultats.

Il suffit d'ajouter au liquide de digestion son volume d'acide trichloracétique à 10 pour 100 pour précipiter toutes les albumines natives. Toutefois, une minime partie des albumoses précipite aussi, mais, celles-ci étant solubles à chaud, il suffira d'une courte ébullition, suivie d'une filtration rapide du liquide bouillant, pour être assuré d'avoir séparé les albumines qui resteront seules sur le filtre. Ce précipité d'albumine sera lavé à plusieurs reprises par une solution bouillante d'acide trichloracétique à 5 pour 100. Les filtrats réunis seront versés dans un ballon de KJELDAHL de 250 centimètres cubes additionnés d'oxalate de potasse et d'acide sulfurique et soumis aux mêmes opérations que précédemment.

Soit n le nombre de centimètres cubes nécessaires pour saturer l'acidité qui a pris naissance dans le liquide exactement neutralisé par addition de formol neutre. Ayant opéré sur 5 centimètres cubes du liquide de digestion et rapportant les résultats à 20 centimètres cubes de ce liquide, il s'ensuit que N du filtrat, après précipitation par l'acide trichloracétique, c'est-à-dire N

(1) MARTIN, *Journal of Physiology*, t. XV, p. 375.

correspondant à l'azote de transformation ($N^2 + N^3$) sera donc : $n \times 2,8 \times 4$.

Signalons enfin que l'on peut doser directement aussi l'azote albumine restée sur le filtre (N^1). Il suffit de recueillir le précipité et de déterminer par la méthode de KJELDAHL l'azote qu'il contient (N^1).

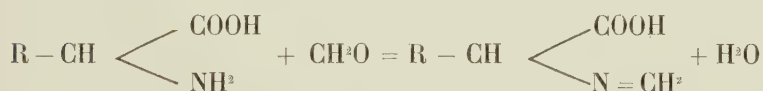
Divers essais nous ayant montré que constamment, et avec la plus grande exactitude, $N^1 = N^1 + (N^2 + N^3)$, le dosage de N^1 nous a paru inutile et en pratique il suffit de déterminer seulement l'azote du filtrat.

DOSAGE DE N^3

N^3 a été défini comme représentant la quantité d'azote des amino-acides présents dans les liquides de digestion.

L'importance de ce dosage est considérable, puisqu'il donne la mesure des produits d'hydrolyse les plus avancés. On doit à SÖRENSEN (1) une méthode simple, rationnelle et suffisamment précise.

Les nombreux acides aminés provenant de l'hydrolyse des substances protéiques possèdent tous le groupement caractéristique — $CHNH^3 - COOH$. Si on les additionne de formol (CH^2O) en excès, ce corps en réagissant sur NH^3 donnera H^2O et $N = CH^2$.



Le dérivé méthylénique ainsi formé, comprenant la fonction acide ($COOH$) non compensée par la fonction basique (NH^3) « bloquée », se comportera comme un acide énergique et peut être titré par un dosage acidimétrique en présence de phtaléine.

SÖRENSEN a étudié avec soin comment divers amino-acides se comportent vis-à-vis du formol et est arrivé à des résultats intéressants. D'ailleurs, sa méthode a subi avantageusement le contrôle de plusieurs expérimentateurs ; elle est aujourd'hui classique.

(1) SÖRENSEN, *Biochemische Zeitschrift*, vol. VII, p. 43, 1907-1908.

Pour doser les amino-acides dans un liquide de digestion, on en mesure d'abord 5 centimètres cubes dans un verre à expérience. On neutralise exactement à la phtaléine par addition de soude (*a*). Ajouter 10 centimètres cubes d'un mélange à parties égales de formol à 40 pour 100 et d'eau distillée exactement neutralisée à la phtaléine par de la soude N/5. Le liquide devient acide; faire alors couler de la soude N/5 contenue dans une burette graduée en agitant jusqu'à coloration rouge nette. On note la quantité (*b*) d'alcali nécessaire à la neutralisation de l'acidité après formol.

L'acidité totale du témoin $A = a$ (acidité directe) + *b* (acidité après formol) (1).

Il est facile, connaissant A, de déterminer les corps aminés qui prennent naissance du fait de la digestion. Dans ce but, on mesure 5 centimètres cubes du liquide digestif, on l'additionne d'un mélange (10 centimètres cubes) à parties égales de formol à 40 pour 100 et d'eau distillée. Le liquide devient très acide et il est nécessaire, pour obtenir sa neutralisation, de verser une quantité B variable de soude N/5.

Si A = acidité totale du témoin, B = acidité du liquide de digestion,

$$B - A = n \text{ centimètres cubes de NaOH N/5}$$

n représente l'acidité des fonctions COOH mis en liberté du fait de la protéolyse. Cette acidité mesure donc la quantité d'acides détachée de la molécule albumine. Elle peut être exprimée directement par le volume de soude N/5 nécessaire à la neutralisation ou mieux encore en milligrammes d'azote en multipliant par 2,8 le nombre de centimètres cubes d'alcali trouvé.

Ayant opéré sur 5 centimètres cubes de liquide de digestion et rapportant à 20 centimètres cubes les résultats obtenus on aura :

$$N^3 = \text{milligr. N (amino-acides in 20 cc.)} = n \times 2,8 \times 4$$

Quelques remarques sont toutefois nécessaires. Cette méthode

(1) Remarquons à ce sujet qu'il existe toujours des traces d'acides dans les liquides de digestion avant toute action digestive.

au formol dose non seulement les amino-acides, mais aussi l'ammoniaque qui a pris naissance au cours de la digestion. Il est donc de la plus grande importance de déterminer le rapport qui existe entre ces deux éléments. On sait d'ailleurs que des procédés de dosages basés sur cette propriété du formol ont été imaginés par RONCHÈSE (1), par Malfatti (2) pour le dosage direct de l'ammoniaque dans l'urine ; par RONCHÈSE pour le dosage de l'azote total (urine, sang, etc.) après transformation en sulfate d'ammoniaque par la méthode de KJELDAHL. Nous nous sommes assuré par quelques expériences préliminaires que la quantité d'azote ammoniacal qui prend naissance dans les liquides de digestion, sous l'influence des agents protéolytiques, est sensiblement négligeable, toutes choses égales, relativement à celle des amino-acides libérés. C'est ainsi que dans une solution neutre de caséine (20 centimètres cubes) contenant 46 milligrammes d'azote total, laissée pendant 3 heures à 40° en présence de 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja*, il s'est libéré 8 milligr. 9 d'azote titrable au formol (azote des amino-acides + azote ammoniacal).

L'azote ammoniacal, dosé séparément par la méthode de GRAFE (3) donne le chiffre de 0 mill. 5.

On voit donc que la quantité d'ammoniaque libérée dans nos conditions d'expérience peut être considérée comme négligeable.

Signalons enfin que le dosage des amino-acides tel que nous l'avons décrit n'est exact que si l'acidité totale (acidité directe + acidité après formol) est due uniquement aux corps aminés. C'est d'ailleurs le cas le plus général. Il n'en est pas de même lorsqu'on emploie le lait comme substance à digérer. On sait, en effet, que ce liquide contient, outre la caséine, du

(1) RONCHÈSE, Méthode de dosage de quelques composés azotés. Thèse de pharmacie. Paris 1907-1908.

(2) MALFATTI, *Zeitschrift für analyt. Chemie*, t. 47, p. 273.

(3) GRAFE, *Zeitschrift für physiol. Chemie*, t. 48, p. 300, 1906. Cette méthode permet de doser totalement et seulement l'ammoniaque contenue dans les liquides de digestion sans toucher aux corps aminés facilement décomposables. Pour cela, comme l'a indiqué GRAFE, il est indispensable de distiller dans le vide et d'employer un alcali soluble et non hydrolysant (solution saturée à froid de carbonate de soude en présence d'une solution saturée à froid de chlorure de sodium) ; il faut enfin que la température à laquelle s'effectue la distillation ne dépasse pas 38 à 40°.

lactose et des graisses ; ces derniers éléments pouvant se décomposer en acides divers perturberaient les résultats si l'on ne se mettait à l'abri de cette cause d'erreur. Nous avons donc constamment opéré en présence d'un tube témoin.

LECTURE DES TABLEAUX D'EXPÉRIENCES

En résumé, nous avons dosé N^1 , $(N^2 + N^3)$, N^3 , avant et après protéolyse. Les résultats toujours *exprimés en azote* ont été obtenus par la même méthode (méthode au formol) appliquée soit directement (N^2) soit après transformation des éléments azotés en sulfate d'ammoniaque (méthode de KJELDAHL) ; ils sont donc comparables. Cette technique, d'une grande exactitude, présente de réels avantages sur celles qui furent employées jusqu'ici.

Nos résultats ont été réunis en tableaux. Après avoir indiqué la substance protéique employée *comme matière à digérer*, le suc digestif mis en expérience, le temps, la température, etc., nous établissons dans une première colonne la répartition de l'azote sous ses diverses formes N^1 , N^1 , N^2 , N^3 pour 20 centimètres cubes de liquide avant et après digestion. N^1 , $(N^2 + N^3)$, N^3 ayant été déterminés directement, N^2 correspond évidemment à $(N^2 + N^3) - N^3$; N^1 correspond à $N^1 - (N^2 + N^3)$.

Cette colonne fait connaître les diverses formes de l'azote dans les liquides d'expériences avant et après protéolyse.

La deuxième colonne (gain net) donne des indications sur l'augmentation des facteurs $(N^2 + N^3)$, N^2 , N^3 .

Les chiffres qui y correspondent sont directement en rapport avec l'activité protéolytique. $(N^2 + N^3)$ est fonction de l'activité protéolytique globale ; N^2 , de la peptonisation ou de la formation de peptides, ou, plus exactement encore, des corps azotés qui ne sont ni albuminoïdes ni acides aminés ; N^3 est fonction de la mise en liberté des acides aminés ou de la fonction érépétique. Les chiffres sont facilement calculés ; il suffit, en effet, de soustraire dans chaque groupe la quantité initiale de celle du témoin.

On remarquera que les liquides ne contiennent jamais uniquement, avant digestion, de l'albumine native. Nous avons constamment trouvé, en faible quantité il est vrai, de l'azote non

précipitable par l'acide trichloracétique et titrable au formol. Il était donc indispensable d'en faire la détermination.

Le rapport $\frac{N^2}{N^3}$ renseigne sur la relation qui existe entre la mise en liberté des protéoses et peptones d'une part (N^2) et des amino-acides (N^3) d'autre part. La mise en liberté des amino-acides étant due à la fonction tryptique ou éreptique, tandis que la peptonisation est commune à la trypsine et à la pepsine, on voit l'importance des variations de ce rapport.

Le rapport $\frac{100 (N^2 + N^3)}{N^1}$ donne la mesure globale de la protéolyse rapportée à 100 milligrammes d'azote albuminoïde (1).

(1) En effet, soit par exemple $N^1 = 50$ milligrammes d'azote albuminoïde présent dans le liquide de digestion (témoin). Après expérience, on trouve par exemple $N^2 + N^3 = 40$ milligrammes. Pour rapporter à 100 milligrammes de N^1 afin d'avoir toujours des expériences comparables, le calcul suivant suffira :

Pour 50 milligrammes de N^1 on a 40 milligrammes de $(N^2 + N^3)$.

Pour 100 milligrammes de N^1 on a $\frac{100 \times 40}{50}$ ou $\frac{400 (N^2 + N^3)}{N^1}$.

CHAPITRE II

Pepsine — Trypsine — Érepsine

La pepsine et la trypsine furent si souvent signalées à tort dans les sucs digestifs des Invertébrés qu'il est indispensable, avant tout, de rappeler leurs caractères distinctifs.

Voici comment LÉON FRÉDÉRICQ (1) résumait, en 1878, l'état des connaissances à ce sujet : « La présence de la pepsine se reconnaîtra dans ces extraits à ce que la fibrine s'y dissoudra, mais seulement dans la solution acide. Un flocon de fibrine porté dans le liquide s'y gonflera, deviendra transparent, puis fondra peu à peu par les bords. La solution obtenue donnera au bout d'un certain temps la réaction des peptones (coloration rose à froid par la potasse et le sulfate de cuivre).

» Si les extraits contiennent de la trypsine (ferment du pancréas), ils digéreront rapidement la fibrine en solution alcaline, un peu moins bien en solution neutre, mal ou pas du tout en solution acide. La fibrine ne s'y gonflera pas, mais se résoudra en fragments, puis en détritrus finement granuleux. La solution donnera également la réaction des peptones. »

En dehors de l'action physique du gonflement de la substance à digérer, ce sont surtout les conditions de milieu qui furent d'abord remarquées ; les premiers physiologistes qui s'occupèrent de la digestion protéolytique des Invertébrés les considéraient comme suffisantes pour distinguer chaque ferment. Celui qui agissait en milieu acide était une pepsine et l'on concluait à l'existence de la trypsine lorsque l'action digestive s'accomplissait en milieu neutre ou alcalin. Quand le suc digestif agissait à la

(1) FRÉDÉRICQ, La digestion des matières albuminoïdes chez quelques Invertébrés. *Archives de zoologie expérimentale et générale*, t. VII, 1878.

fois en milieu acide, neutre et alcalin, il contenait les deux diastases (KRUKENBERG). Or, nous montrerons plus loin qu'il est fondamental de déterminer la nature et l'importance de l'acidité pour prévoir si l'action pepsique peut se manifester.

D'autre part, les travaux de KÜHNE ont montré qu'indépendamment des conditions de milieu il fallait encore, pour distinguer la pepsine et la trypsine, connaître les produits fournis par chacune de ces deux diastases. La pepsine n'amène la décomposition de la molécule albuminoïde que jusqu'à la phase peptone, tandis que l'action trypsique libère en plus des acides aminés.

Toutefois, sur ce dernier point, l'accord ne fut pas unanime ; des physiologistes, tels que HOPPE-SEYLER, ZENTZ, LAVROW soutinrent que la digestion pepsique prolongée pouvait également donner des acides aminés, mais pas de tryptophane (1). Des expériences rigoureuses, pratiquées avec du suc gastrique pur de chien, recueilli par la méthode du petit estomac de PAWLOW, ont tranché le débat. On obtient des albumoses, des peptones, des produits abiurétiques encore plus simplifiés, mais pas d'acides aminés. Ce n'est qu'en utilisant des pepsines commerciales ou des extraits de muqueuses stomacales, souvent souillés de trypsine ou d'érepsine, qu'on obtient des amino-acides. ABDERHALDEN et RONA (2) ont observé avec une pepsine commerciale de GRÜBLER la formation d'amino-acides et de tryptophane aux dépens de la caséine. Rien de semblable ne se passe avec du suc gastrique pur. Enfin, un autre caractère distinctif entre la trypsine et la pepsine est l'inactivité complète de celle-ci sur les polypeptides de synthèse. Tous ces faits permettent aisément de comprendre l'insuffisance des données anciennes relatives à l'existence de la pepsine et de la trypsine dans les sucs digestifs des Invertébrés.

On s'est, en effet, contenté dans la plupart des cas, de caractériser la pepsine et la trypsine par la réaction du milieu d'action.

(1) Voir pour la bibliographie de cette question : KUTSCHER et LOHMANN, *Zeitschrift für physiologie Chemie*, p. 332, t. XLI, 1904.

(2) ABDERHALDEN et RONA, *Zeitschrift für physiol. Chemie*, t. XLVII, p. 360.

Voir encore BOLDIREW, *Zentralblatt f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels*, N. F., t. III, p. 209, 1908. — *Arch. de Pflüger*, t. CXXI, n° 1-2, 1907.

BERGMANN, *Skand. Arch. f. Physiol.*, t. XVIII, p. 119, 1906.

O. COHNHEIM, *Physiologie der Verdauung*, etc., Berlin, 1908, p. 69.

Or, on sait actuellement l'importance de la quantité d'acide mise en expérience sur la marche de la digestion peptique. Les produits de décomposition des albumines sont comme l'albumine elle-même des électrolytes amphotères, mais leur basicité est notablement plus considérable que celle des albumines et globulines. Au cours de la digestion, une quantité plus ou moins grande d'acide libre se combine avec la matière protéique. Si la quantité présente au début est faible par rapport à la quantité d'albumine, l'action de la pepsine s'arrête avant l'apparition des produits finaux de la digestion.

Voici d'ailleurs comment s'exprime F. RÖHMANN (1) à ce sujet :

« Für den Ablauf der Verdauung und die Art der Endprodukte ist die Menge von Säure, welche zur Verwendung gelangt, von wesentlicher Bedeutung (2). Die Verdauungsprodukte sind ebenso wie das Eiweiss selbst amphotere Elektrolyte, deren Basizität zum Teil sehr erheblich grösser ist als die der Albumine und Globuline. Es wird also mit fortschreitender Verdauung mehr und mehr Salzsäure gebunden. Wenn die anfangs vorhandene Menge Salzsäure im Verhältnis zum Eiweiss gering war, so hört die Wirkung des Pepsins, *welche nur beim Vorhandensein einer gewissen Menge freier Salzsäure vorstatten geht*, auf, bevor alles Eiweiss verdaut ist bezw. die Endprodukte sich gebildet haben, die bei genügender Salzsäuremenge entstanden sein würden. Es ist nun sehr wohl denkbar, *dass, wenn die Salzsäure gebunden ist, andere Fermente tryptischer Natur, wie sie sich auscheinend in allen lebenskräftigen Zellen* und somit auch in der Magenschleimhaut finden, auf die durch das Pepsin gebildeten Produkte einwirken und hierdurch kristallinische Produkte entstehen. »

Toutefois, J. SCHUTZ (3) signale que la présence d'ions H n'est pas nécessaire pour la digestion peptique, laquelle peut se faire en présence d'une quantité très faible d'acide chlorhydrique liée à l'albumine ; cependant, la digestion peptique augmente jusqu'à

(1) RÖHMANN, Biochemie, p. 671.

(2) GÜRBER, *Sitzungsber. d. Physik-med. Gesellsch. z. Würzburg*, 1893, p. 67. O. COHNHEIM, *Zeitschrift für Biol.*, v. 33, p. 489 (1896). W. NEUMANN, *Zeitschrift für physiol. Chem.*, v. 45, p. 216 (1905).

(3) J. SCHUTZ, Ueber den Einfluss der Pepsin, und Salzsäure mengen auf die Intensität der Verdauung, speziell bei Abwesenheit « freier » Salzsäure. *Brochemische Zeitschrift*, vol. XXII, fasc. 1 et 2, p. 32-44.

une certaine limite quand on élève la quantité d'acide chlorhydrique.

Il nous a paru indispensable, avant de commencer l'étude de la digestion protéolytique chez les Invertébrés, de préciser, par un certain nombre d'expériences, le rôle de l'acidité du milieu d'action sur la marche de la protéolyse.

La plupart des auteurs, en effet, se sont contenté d'introduire dans les liquides de digestion une quantité déterminée d'acide. Or nous allons montrer qu'il est indispensable de différencier l'acidité du milieu d'action en *acidité forte, faible, après formol*, et de connaître la quantité des éléments azotés présents dans le liquide.

Exemple. — Si dans une solution protéique on ajoute une solution d'acide fort (HCl N/5), une partie de l'acide se combine aux albumines, l'autre restant libre, si toutefois on ajoute une quantité suffisante d'acide. On différencie alors l'acide resté libre en opérant de la façon suivante :

Prélever dans un vase à expériences 5 centimètres cubes de cette solution protéique, ajouter quelques gouttes d'une solution alcoolique de diméthylamidoazobenzol. Le liquide se colore en rouge s'il contient de l'acide libre. Neutraliser avec de la soude N/5, la coloration vire progressivement au jaune orangé, puis au jaune. Soit n le nombre de centimètres cubes de soude N/5 lu à la burette. Il mesure l'*acidité forte*.

Dans le même liquide, ajoutons quelques gouttes de phtaléine et versons de nouveau de la soude titrée jusqu'à coloration jaune rougeâtre. Soit n' la quantité de soude employée. Elle mesure l'*acidité faible*.

Enfin, toujours dans le même liquide, ajoutons 10 centimètres cubes de formol au demi exactement neutralisé. Si le liquide devient incolore, ajouter une nouvelle quantité de NaOH N/5 jusqu'à coloration rouge nette. La quantité n'' de soude employée représente l'*acidité après formol*.

Au cours de ce travail il sera souvent question de ces diverses acidités, précisons donc que nous désignons par acidité forte l'acidité titrable au diméthylamidoazobenzol, acidité due à un acide fort libre. L'acidité faible est le reste de l'acidité du mélange titrable directement à la phthaléine (acide combiné avec

les albumines, acides faibles, acides organiques, sels acides, etc.). Enfin l'acidité après formol est celle qui prend naissance dans ce même liquide par l'addition d'une certaine quantité de formol neutre.

L'acidité totale est la somme de ces trois acidités.

Ceci posé, nous avons fait une série d'expériences pour nous rendre compte des variations de ces facteurs de l'acidité au cours de divers processus digestifs.

1° RAPPORT ENTRE LA QUANTITÉ DE SUBSTANCES PROTÉIQUES ET LES DIVERS FACTEURS DE L'ACIDITÉ

EXPÉRIENCES

On prépare les mélanges suivants :

1° 5 centimètres cubes de lait normal + 5 centimètres cubes HCl N/5.

2° On prépare un autre tube contenant la même quantité de lait mais *dilué de moitié* avec une solution neutre physiologique de NaCl et 5 centimètres cubes de HCl N/5. Ce dernier tube contient donc moitié moins d'éléments azotés.

Dans ces deux mélanges, on dose avec de la soude N/5 l'acidité forte, faible, après formol.

*Résultats exprimés par la quantité de soude N/5 nécessaire
à neutraliser les diverses acidités*

PREMIER TUBE		DEUXIÈME TUBE	
Acidité forte	1	Acidité forte	3,80
Acidité faible	4,4	Acidité faible	1,65
Acidité après formol .	0,4	Acidité après formol .	0,30
Acidité totale . . .	5,8	Acidité totale . . .	5,75

On constate que, pour une même quantité d'acide mise en expérience, la répartition de l'acidité forte et faible varie d'une façon considérable. Moins le liquide contient d'albumine et plus l'acidité forte est élevée, jusqu'à devenir seule présente lorsque le liquide ne contient pas de corps azotés. Les auteurs qui se sont borné à ajouter une quantité déterminée d'acide dans un liquide de digestion, sans avoir au préalable fixé la quantité

d'azote total et le taux de l'acidité forte et faible, ont donc négligé de préciser les conditions d'expérience.

2° VARIATIONS DE L'ACIDITÉ AU COURS DES PROCESSUS DIGESTIFS

EXPÉRIENCES

PRÉPARATION DES SUBSTANCES PROTÉIQUES. *a) Solution acide de caséine.* — A 10 grammes de caséine MERCK on ajoute 60 centimètres cubes de HCl N/5 et de l'eau distillée jusqu'au volume de 250 centimètres cubes. On chauffe légèrement au bain-marie à 40°-50°. Agiter. Laisser déposer et décantier le liquide limpide.

b) Solution d'ovalbumine acide. — A 50 centimètres cubes d'ovalbumine ajouter 150 centimètres cubes de solution physiologique de NaCl et 5 centimètres cubes HCl N. Agiter énergiquement. Laisser reposer jusqu'au lendemain et filtrer. Le liquide limpide ainsi obtenu est acidifié avec 5 centimètres cubes HCl N.

c) Solution neutre de caséine. — A 10 grammes de caséine MERCK on ajoute 38 centimètres cubes NaOH N/5 + de l'eau jusqu'à 250 centimètres cubes. Agiter. La caséine se dissout facilement, le liquide est limpide.

d) Solution neutre d'ovalbumine. — On ne peut employer une solution neutre d'ovalbumine, qui est mal attaquée par la trypsine. Suivant les indications de SÖRENSEN, nous nous sommes servi d'ovalbumine sur laquelle on a fait agir la pepsine. Voici comment on procède : 50 centimètres cubes d'ovalbumine acide obtenue comme il est dit plus haut (*b*) sont mis en présence de suc gastrique pur de chien (gastérine FRÉMONT) pendant une heure, à 40°. On neutralise à la phtaléine par NaOH N/5. Le liquide ainsi neutralisé sert à la digestion pancréatique.

Les liquides digestifs employés sont du suc gastrique pur de chien (gastérine FRÉMONT) pour l'action peptique et une solution à 1/10 de pancréatine GRÜBLER.

On fait les mélanges suivants :

1° 50 centimètres cubes solution acide de caséine + 1 centimètre cube suc gastrique de chien.

2° 50 centimètres cubes solution acide d'ovalbumine + 1 centimètre cube suc gastrique de chien.

3° 50 centimètres cubes solution neutre de caséine + 1 centimètre cube solution de pancréatine.

4° 50 centimètres cubes solution neutralisée d'ovalbumine attaquée par pepsine + 1 centimètre cube solution pancréatine.

Immédiatement avant digestion on fait des prélèvements dans chaque tube pour effectuer le dosage de N^1 , ($N^2 + N^3$), N^3 .

2 centimètres cubes pour doser N^1 par la méthode de KJELDHAL.

5 centimètres cubes pour doser $N^2 + N^3$.

5 centimètres cubes pour N^3 .

Avant digestion également on effectue les dosages de l'acidité forte, faible et après formol, indiqués dans l'expérience précédente.

Ces dosages témoins étant faits, on porte à 40° les quatre tubes additionnés de quelques gouttes de toluol.

Après 15 heures et après cinq jours de digestion, des prises de 5 centimètres cubes ont été faites pour doser ($N^2 + N^3$) et N^3 .

On dose aussi l'acidité forte, faible et après formol.

Les résultats consignés dans le tableau I montrent qu'au cours d'une *digestion peptique* l'acidité forte diminue jusqu'à devenir nulle. C'est ainsi qu'une solution de caséine, acide au diméthyl-amidoazobenzol avant digestion ne contenait plus trace d'acide fort libre après cinq jours de digestion.

Des résultats du même ordre ont été obtenus avec la solution d'ovalbumine, laquelle réclamait pour 5 centimètres cubes 0 cc. 8 de NaOH N/5 avant digestion et 0 cc. 2 seulement après cinq jours. Ce fait est à signaler.

Le tableau montre encore que l'acidité faible augmente dans des proportions sensiblement égales à la diminution de l'acidité forte.

L'acidité après formol ne varie pas. C'est là un fait à retenir, car il témoigne qu'au cours d'une digestion peptique, lorsqu'on emploie du suc gastrique pur, il n'y a pas mise en liberté de corps aminés. Nous reviendrons, du reste, sur ce point.

Au cours de la digestion pancréatique, l'acidité faible augmente, mais l'élévation de cette acidité porte surtout sur l'acidité après formol. Un parallélisme évident existe entre la mise en liberté de ces deux sortes d'acidités au cours de la digestion (l'acidité directe étant toujours beaucoup plus faible que l'acidité après formol). Ce fait s'explique bien si l'on considère que, comme l'ont signalé BERTHELOT et SÖRENSEN, les amino-acides sont toujours directement acides à la phtaléine, mais que la totalité de leur fonction acide ne se manifeste qu'après addition de formol.

Donc, dans ces conditions, l'augmentation de l'acidité directe

TABLEAU I

ENZYMES	SUBSTANCES protéiques	NATURE DE L'ACIDITÉ du liquide de digestion	RÉACTION DU LIQUIDE		VARIATIONS DE LA RÉACTION
			Quantité de NaOH N° 5 nécessaire à neutraliser 5° de liquide		
			Avant digestion	Après 5 jours à 40°	
Suc gastrique pur	Caséine	Acidité forte.....	0,5	0,0	- 0,5
		Acidité faible.....	0,9	4,4	+ 0,5
		Acidité formol.....	0,3	0,3	0,0
		Acidité totale.....	1,7	4,7	0,0
de Chien	Ovalbumine	Acidité forte.....	0,8	0,2	0,6
		Acidité faible.....	0,8	4,5	+ 0,7
		Acidité formol.....	0,4	0,4	0,0
		Acidité totale.....	2,0	2,1	+ 0,1
Pancréatine	Caséine	Acidité faible.....	0,2	1,0	+ 0,8
		Acidité formol.....	0,4	3,0	+ 2,6
		Acidité totale.....	0,6	4,0	+ 3,4
Grübler	Ovalbumine	Acidité faible.....	0,35	0,5	+ 0,15
		Acidité formol.....	0,30	4,55	+ 4,25
		Acidité totale.....	0,65	2,05	+ 1,40

et après formol, par rapport à un témoin, peut être considérée comme donnant la mesure de la totalité des amino-acides libérés.

Ainsi, avant protéolyse, la solution de caséine employée pour la digestion pancréatique avait une acidité totale de 0,6 (exprimée en NaOH N/3 pour 5 centimètres cubes de liquide) se décomposant en acidité directe 0,2, acidité après formol 0,4. Après digestion à 40° pendant cinq jours, on trouve l'acidité totale 4,0 se décomposant en acidité directe 1, acidité après formol 3,0. Le gain en acidité totale = $4 - 0,6 = 3,4$ est dû entièrement aux amino-acides qui ont pris naissance. Il se répartit en une augmentation de 0,8 pour l'acidité directe et de 2,6 pour l'acidité après formol (*voir tableau I*).

En résumé, *la digestion peptique se caractérise par une diminution progressive de l'acidité forte et une élévation proportionnelle de l'acidité faible sans variations de l'acidité après formol.*

La digestion pancréatique se distingue, au contraire, par une élévation progressive de l'acidité faible et surtout de l'acidité après formol, élévation due à la mise en liberté des amino-acides.

Quant à la marche respective de la protéolyse peptique et tryptique, les résultats consignés dans le tableau II renseignent à ce sujet. On voit notamment que la pepsine est une diastase peptonisante et non éreptique. Au cours de son action, qui a été pourtant intense puisque globalement 96,6 pour 100 de la caséine, et 64 de l'ovalbumine ont été transformés, il n'y a pas eu la moindre trace d'amino-acides libérés. Ce fait est, du reste, conforme aux expériences d'ABDERHALDEN.

Au contraire, la digestion pancréatique est caractérisée par une activité peptonisante et une activité éreptique sensiblement égales.

L'activité protéolytique globale est, comme pour la pepsine, très considérable. Après cinq jours, 91,2 pour 100 de la caséine sont transformés et 67 pour 100 de l'ovalbumine préalablement attaqués par la pepsine. Mais, au cours de cette digestion, des amino-acides ont pris naissance.

Ils ont été libérés en quantité sensiblement égale à celle des protéoses, puisque le rapport $\frac{N_3}{N^3}$ est voisin de 1. C'est là

TABLEAU II *

ENZYMES	SUBSTANCES PROTÉIQUES	Répartition de N in 20 cc. liquide				GAIN NET			RAPPORTS	
		N ¹	N ²	N ³	N ³	N ² + N ³	N ²	N ³	$\frac{400(N^2 + N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Suc gastrique de	Caséine Merck									
	Avant digestion	43,20	39,84	0,00	3,36	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	43,20	43,04	26,80	3,36	26,80	26,80	0	67,0	∞
Chien	Après 5 jours	43,20	1,20	38,64	3,36	38,64	38,64	0	96,6	∞
	Ovalbumine									
	Avant digestion	67,20	62,72	0,00	4,48	—	—	—	—	—
Pancreatine	Après 15 heures	67,20	33,62	29,40	4,48	29,40	29,40	0	46,2	∞
	Après 5 jours	67,20	22,40	40,32	4,48	40,32	40,32	0	64,0	∞
	Caséine Merck									
Grübler	Avant digestion	89,60	81,76	3,36	4,48	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	89,60	43,20	38,32	38,08	68,56	34,96	33,60	82,0	1,06
	Après 5 jours	89,60	6,90	40,44	42,56	74,86	36,78	38,08	91,2	0,96
Grübler	Ovalbumine partiellement digérée par pepsine									
	Avant digestion	56,00	40,32	12,32	3,36	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	56,00	26,88	20,06	9,06	43,44	7,74	5,70	33,6	1,35
Grübler	Après 5 jours	56,00	43,50	23,46	49,04	26,82	44,44	45,68	67,0	0,70

* Les conditions de milieux sont celles du tableau I.

un fait intéressant à connaître et qui permettra au cours de nos recherches de caractériser les ferments protéolytiques des Invertébrés.

En résumé, la pepsine et la trypsine se différencient très nettement par les trois caractères suivants :

1° *Par le milieu d'action.* — La pepsine agit seulement en présence d'une acidité notable, et l'intensité de la digestion augmente jusqu'à une certaine limite quand on élève la teneur du milieu en acide.

La trypsine réclame, au contraire, un milieu neutre, alcalin ou faiblement acide.

2° *Par les variations de l'acidité au cours de la protéolyse « in vitro ».* — Dans les liquides de digestion peptique, il y a diminution de l'acidité forte, augmentation de l'acidité faible. L'acidité après formol reste invariable.

Dans les liquides de digestion pancréatique, il y a augmentation progressive et parallèle de l'acidité directe et après formol, cette dernière étant due à la libération d'amino-acides.

3° *Par le processus d'action.* — La pepsine est un ferment peptonisant et non éreptique. La trypsine possède à la fois la propriété de peptoniser et de transformer les substances protéiques en amino-acides ; au cours des digestions *in vitro*, l'activité peptonisante et l'activité éreptique de cette diastase sont sensiblement égales.

Enfin, une partie de l'action protéolytique de la trypsine ne reviendrait-elle pas à l'érepsine ? Depuis sa découverte par COHNHEIM (1), quelques auteurs ont cherché à s'en rendre compte.

D'après NAKAYAMA (2) l'érepsine peut détruire l'acide nucléinique intestinal avec mise en liberté d'acide phosphorique et de bases xanthiques. La trypsine, au contraire, même après quatorze jours est impuissante à produire de telles modifications.

(1) COHNHEIM, Die Umwandlung des Eiweiss durch die Darmwand. *Zeitschrift f. physiol. Chemie*, 1901, XXXIII, p. 451. — Weitere Mittheilungen über das Erepsin. *Ibid.*, 1902, XXXV, p. 139. — Trypsin und Erepsin. *Ibid.*, 1902, XXXVI, p. 13.

(2) NAKAYAMA, Ueber das Erepsin. *Zeitschrift für physiol. Chemie*, t. 41, 1904, p. 348-363.

GLAESSNER et A. STAUBER (1) ont montré aussi l'individualité respective de l'érepsine et de la trypsine à l'aide du sérum sanguin. Le sérum sanguin inhibe l'action tryptique, mais n'inhibe pas l'action éreptique.

Enfin on a rapproché de la trypsine une multitude d'autres diastases rencontrées chez des animaux appartenant à divers groupes zoologiques : trypsine des Spongiaires (2), Actinoprotéases des Actinies (3), ferment tryptique des Echinodermes (4), de l'hépatopancréas des Céphalopodes, des Insectes, des Crustacés, etc. La nature de tous ces ferments laisse beaucoup d'incertitude.

C'est en nous basant sur les données bien établies chez les Vertébrés que nous avons abordé l'étude des ferments protéolytiques des Invertébrés.

(1) GLAESSNER et A. STAUBER, Beziehungen zwischen Trypsin und Erepsin. *Bioch. Zeitschrift*, vol. XXV, 1910, p. 204.

(2) KRUKENBERG, Ueber die Enzymbildung in den Geweben und Gefässen der Evertebraten. *Unters. d. physiol. Inst. Heidelberg*, p. 339, 11, 1882.

(3) MESNIL, Recherches sur la digestion intra-cellulaire et les diastases des Actinies. *Ann. Inst. Pasteur*, XV, 332, 1901.

(4) FRÉDÉRICQ, *Loc. cit.*

KRUKENBERG, *Loc. cit.*, p. 336, 11, 1882.

CHAPEAUX, Sur la nutrition des Echinodermes. *Bull. Acad. de Bruxelles*, 3^e s., XXVI, 227, 1893.

CHAPITRE III

Réaction des sucs digestifs des Invertébrés

Dans le but de caractériser la pepsine et la trypsine, les auteurs se sont surtout attaché, chez les Invertébrés, à déterminer la réaction chimique des sucs digestifs.

Or, on est surpris, à la lecture des Mémoires, de rencontrer sur ce point les opinions les plus contradictoires (1). Il est juste cependant de remarquer que les auteurs n'ont pas opéré dans des conditions identiques. Ainsi, certains ont employé comme indicateur le tournesol et d'autres le papier Lackmus; quelques-uns même ne disent pas comment ils ont déterminé la réaction. Enfin l'état physiologique de l'animal étudié (à jeun ou en digestion) est un facteur important qui, souvent, n'a pas été signalé.

Quant à la nature de l'acidité, parfois constatée, il n'a été émis sur elle que des hypothèses.

Est-elle d'origine glandulaire, comme chez les Vertébrés? Proviend-elle de corps à fonctions acides existant normalement dans les sucs digestifs? Est-elle due à des corps qui se forment au cours des processus digestifs? Dans ce dernier cas, quels sont ces corps?

Voilà, semble-t-il, des questions dont il y aurait lieu de se préoccuper.

Pour montrer l'étendue des contradictions nous allons passer en revue les résultats des auteurs.

Crustacés. — HOPPE-SEYLER (2) trouve faiblement acide le liquide contenu dans la poche gastrique d'*Astacus*.

(1) Il ne s'agit bien entendu ici que de la réaction constatée à l'aide des indicateurs ordinaires.

(2) HOPPE-SEYLER (1876), Ueber Unterschieden in chemischen Bau und in der Verdauung höherer und niederer Tiere. *Arch. ges. Physiol.*, Bd. 14, p. 393-400.

SCHLEMM (1), KRUKENBERG (2), LINDNER (3) trouvent également acide la sécrétion hépatique du même animal.

D'autre part, STAMATI (4) constate que le suc digestif d'*Astacus* est tantôt alcalin, tantôt acide, selon que l'animal est à jeun ou en digestion. Voici, d'ailleurs, comment il s'exprime à ce sujet : « Toutes les fois que l'estomac de l'animal est vide d'aliments, il ne contient que du suc jaune et la réaction est *alcaline*. J'ai remarqué toutefois que quand l'estomac est en pleine digestion et gorgé d'aliments, le contenu offre la réaction *acide*, le suc alcalin réagit dans l'estomac sur les aliments et c'est dans cet organe que prend naissance l'acidité..... »

JORDAN (5), qui a employé le papier Lackmus comme indicateur, signale des résultats diamétralement opposés. Ce suc serait tantôt acide, tantôt alcalin chez les sujets à jeun, et constamment alcalin chez ceux qui sont en digestion.

Céphalopodes. — Claude BERNARD (6), parlant de la réaction des diverses régions de l'appareil digestif des Céphalopodes, dit : « A propos des réactions des différentes parties de l'intestin, voici ce que l'on peut dire : La bouche pendant l'afflux de la salive offre constamment la réaction *alcaline*. L'estomac pendant la digestion offre constamment chez tous les animaux une réaction *acide*. L'intestin grêle offre une réaction tantôt *acide*, tantôt *alcaline*, alcaline quand les matières alimentaires non azotées dominent dans l'alimentation, acide quand ce sont les matières azotées. »

Paul BERT (7) trouve chez *Sepia* les sécrétions digestives constamment acides. « Les glandes salivaires, écrit-il, produisent un liquide *acide*. Le premier estomac est un simple gésier à parois épaisses, qui ne sécrète aucun liquide et dans lequel cependant

(1) SCHLEMM, Dissert. Berlin 1844, d'après Otto von FÜRTH, Vergleichende chemische Physiol. der niederen Tiere. Jena 1903, p. 225.

(2) KRUKENBERG, *Unters. d. physiol. Institut. Heidelberg*, 2, 1878.

(3) LINDNER, Dissert. Berlin 1844 ; d'après Otto von FÜRTH.

(4) STAMATI, Recherches sur le suc gastrique de l'Ecrevisse. *Comptes rendus de la Soc. de Biol.*, 1888, p. 16. Recherches sur la digestion chez l'Ecrevisse. *Bulletin Soc. Zool. de France*, t. XIII, 1888, p. 149.

(5) JORDAN, Der Stand der Frage nach der Eiweissverdauung bei nied. Tieren. *Biologisches Centralblatt*, 1907, p. 375-384.

(6) Cl. BERNARD, Leçons de physiologie expérimentale, t. II, 1836, p. 488, p. 456-457.

(7) P. BERT, *Comptes rendus Académie des Sciences*, t. 65, 1867, p. 300.

se fait la digestion, grâce aux *sucs acides* qu'y versent et les glandes salivaires et le cæcum spiral.... Le tissu du foie est fortement *acide* sur le vivant même, cette acidité est due à une substance soluble dans l'eau. »

JOUSSET DE BELLESME (1), en expérimentant sur *Octopus vulgaris*, montre que la sécrétion du foie est constamment *acide* : « Si on coupe une partie périphérique de la glande et on y creuse une dépression, celle-ci se remplit par suintement d'un liquide qu'on peut regarder comme pur et dont on peut recueillir une quantité suffisante pour l'expérience.... Le liquide qui s'écoule du foie est très abondant. Sa densité est 1,024, il est limpide, presque incolore, très riche en albumine puisqu'il se coagule et se prend en masse par la chaleur. Son caractère le plus remarquable est d'être *franchement acide*. C'est même de tous les liquides qui servent à la digestion le plus acide et le plus abondant.... »

Les résultats obtenus par LÉON FRÉDÉRICQ (2) chez le même animal parlent dans le même sens : « On trouve dans le jabot, l'estomac et le cæcum une assez grande quantité d'un liquide *acide* brunâtre qui peut servir à faire des digestions artificielles. Le contenu de l'intestin a, d'ailleurs, partout une réaction *franchement acide*.... Le tissu des glandes salivaires et du foie est lui-même fortement *acide*, comme l'avait vu PAUL BERT. »

BOURQUELOT (3) trouve le suc digestif des Céphalopodes toujours faiblement acide : « L'acidité normale du suc digestif des Céphalopodes que j'ai examinés est extrêmement faible ou tout au moins insuffisante à déterminer l'action pepsique. C'est là la seule indication que je puisse donner sur le degré et la *nature de l'acide libre* de ce liquide, les divers essais auxquels je me suis livré pour les séparer n'ayant pas abouti. »

VICTOR HENRI (4), parlant du suc hépatique pur obtenu par fistule chez *Octopus vulgaris*, dit : « Ce suc hépatique est rouge

(1) JOUSSET DE BELLESME, Recherches sur la digestion chez les Mollusques céphalopodes. *Comptes rendus Académie des Sciences*, t. 88, 1879, p. 304.

(2) LÉON FRÉDÉRICQ, Physiologie du Poulpe commun. *Archives de Zoologie expérimentale et générale*, t. VII, 1878, p. 578.

(3) BOURQUELOT, Recherches sur les phénomènes de la digestion chez les Mollusques céphalopodes. *Archives de Zool. expérimentale et générale*, t. VII, 1885.

(4) VICTOR HENRI, Etude des ferments digestifs chez quelques Invertébrés. *Comptes rendus de la Soc. de Biol.*, 1903, p. 1317.

brun foncé, *acide au tournesol*, il donne un précipité abondant par l'alcool et par l'ébullition, il donne la réaction du biuret.... »

FALLOISE (1) obtient chez les Céphalopodes des résultats du même ordre : il dit notamment : « Il était intéressant de rechercher quelle était la réaction du tube digestif chez les Céphalopodes à jeun et en digestion. En effet, c'est dans la cavité digestive que se déverse le suc hépatique, c'est là que les ferments exercent leur action sur les aliments. La réaction du tube digestif pourra nous apprendre si ces ferments agissent normalement en milieu acide, neutre ou alcalin. FRÉDÉRICQ mentionne que chez l'*Octopus* il a trouvé le contenu de l'appareil digestif *acide* dans toute son étendue. Nous avons fait une série de recherches à ce sujet sur l'*Eledone moschata* et l'*Octopus*. Celles-ci ont consisté à ouvrir rapidement les animaux soit à jeun, soit après qu'ils avaient mangé des Crabes depuis un temps plus ou moins long et à déterminer la réaction du contenu. Chez les Céphalopodes à *jeun*, l'œsophage et le jabot contiennent un liquide transparent légèrement *acide au tournesol*. L'estomac et le cæcum sont tantôt acides, tantôt ils contiennent un peu de liquide clair légèrement acide ou neutre. Chez les animaux en digestion, le contenu des divers segments du tube digestif est *nettement acide*, sauf dans la partie terminale de l'intestin. Une seconde série d'expériences a consisté à injecter dans la bouche, au moyen d'une seringue de Pravaz munie d'une sonde fine, une certaine quantité de solution bleue de tournesol, puis à ouvrir l'animal un certain temps après l'injection et à observer par transparence la coloration des diverses parties du tube digestif. Si l'on ouvre l'animal peu après l'injection, on trouve généralement tout le liquide injecté accumulé dans le jabot, qui se montre distendu. Il suffit alors d'exciter par des chocs d'induction les deux nerfs viscéraux pour provoquer les contractions énergiques de l'appareil digestif et voir le liquide pénétrer dans ses diverses portions. Dans le jabot, la solution de tournesol reste généralement *bleue* ou prend une coloration indécise entre le bleu et le rose. Elle devient nettement rose

(1) FALLOISE, Contribution à la physiologie comparée de la digestion. La digestion chez les Céphalopodes. *Archiv. internat. de Physiologie*, vol. III, fasc. III, mars 1906.

dans l'estomac, le cæcum et l'intestin. Une solution de rouge Congo injectée dans les mêmes conditions conserve sa coloration primitive..... Nous avons examiné la réaction de plus de trente échantillons différents provenant d'*Octopus* ou *Eledone moschata*, soit à jeun, soit en digestion, et dans tous les cas le liquide s'est montré nettement *acide* vis-à-vis du papier bleu de tournesol. Mais, d'autre part, il ne *bleuit pas le rouge Congo* et ne *colore pas la cochenille*, ce qui permet de conclure que l'acidité n'est pas due à des acides minéraux libres, mais probablement à des sels acides. »

D'autre part, KRUKENBERG (1), GRIFFITHS (2), COHNHEIM (3) trouvent les sécrétions digestives et le contenu intestinal d'*Eledone* et de *Sepia* alcalins.

Gastéropodes. — Chez *Aplysia limacina*, BOTAZZI (4) trouve le contenu gastrique *acide* à la phtaléine, au tournesol et à la trépoiline.

L'examen du tableau III montre la divergence des résultats obtenus par les auteurs et combien il est important d'opérer dans des conditions identiques. L'indicateur employé doit toujours être noté; un exemple vulgaire le prouve surabondamment. Le lait de vache, additionné aussitôt après la traite de phénol-phtaléine, réclame pour se colorer en rose un certain volume de NaCH N/10 (pour 20 centimètres cubes, 3 cc. 3 de NaCH N/10). Le lait est donc nettement *acide* à la phtaléine (5). Vis-à-vis du lackmoïde il est alcalin. Le tournesol donne une réaction indécise, elle est neutre ou amphotère. On pourrait multiplier les exemples.

(1) KRUKENBERG, Der Verdauungsvorgang bei einigen Cephalopoden und Pulmonaten. *Untersuchungen d. physiol. Inst. Heidelberg*, Bd. 2, 1878, p. 2, 238, 402, 418.

(2) GRIFFITHS, Chemico-physiological investigations on the Cephalopod liver and its identity as a true Pankreas. *Chem. News*, 1883, t. 51, p. 160. *Proc. of the roy. Soc. Edinb.*, 1884, t. 13, p. 130.

(3) COHNHEIM, Weitere Mittheilungen über Eiweissresorption Versuche an Octopoden. *Zeitschrift für physiol. Chemie*, 1902, t. 35, p. 396.

(4) BOTAZZI, Contribution à la physiologie comparée de la digestion. *Arch. ital. de Biologie*, t. 35, 1901, p. 317, 336.

(5) DENIGÈS, Chimie analytique, 1903, p. 790.

TABLEAU III

ESPÈCES ANIMALES	LIQUIDE ÉTUDIÉ	ÉTAT PHYSIOLOGIQUE	RÉACTION	INDICATEUR	AUTEURS
Crustacés					
<i>Astacus</i>	Liquide gastrique et sécrétion du foie	à jeun id. en digestion id.	faibl ¹ acide acide alcalin acide acide alcalin	— — Papier Lackmus ? Papier Lackmus	HOPPE SEYLER, 1877 SCHLEMM, LINDNER (1), 1844 KRUKENBERG, 1878 STAMATI, 1888 JORDAN, 1907 STAMATI, 1888 JORDAN, 1907
Céphalopodes					
<i>Loligo</i>	Liquide du tractus digestif Liquide intestinal	à jeun	alcalin acide		KRUKENBERG Claude BERNARD
<i>Octopus vulgaris</i>	Sécrétion hépato-pancréatique et liquide suintant du foie Contenu du tube digestif et tissu du foie	en digestion	acide	Tournesol	JOUSSET DE BELLEME, 1879
<i>Octopus</i> et <i>Eledone</i>	Suc digestif Sécrétion hépato-panc. (fistule) Contenu des divers segments du tube digestif	à jeun à jeun et en digestion	faibl ¹ acide acide	— Tournesol, phthaléine	FREDÉRICQ, 1878 BOURQUELOT, 1885 V. HENRI, 1903
<i>Sepia</i>	Tissu du foie, sa sécrétion Tissu du foie, suc stomacal Sécrétion hépato-pancréatique	— à jeun	acide alcalin acide acide	Tournesol Tournesol Tournesol	FALLOISE, 1906 GRIFFITHS P. BERT, 1867 V. HENRI, 1903
Gastéropodes					
<i>Aplysia limacina</i>	Contenu gastrique id.	en pleine digestion à jeun	très acide acide	Phthaléine, tournesol, tropéoline id.	BOTAZZI, 1901 id. id.

(1) D'après : Otto von FÜRTH, Vergleichende chemische Physiologie der niederen Thiere. Iéna, 1903.

NATURE ET RÔLE DE L'ACIDITÉ DIGESTIVE DES INVERTEBRÉS
D'APRÈS LES AUTEURS

Il reste à examiner maintenant le rôle que l'on a attribué à cette acidité.

KRUKENBERG la croyait destinée à favoriser l'action pepsique ; BOURQUELOT soutint plus tard, comme nous l'avons dit déjà, que l'acidité des sucs digestifs des Céphalopodes était impuissante à permettre cette action.

D'autres physiologistes lui attribuèrent un pouvoir antiseptique. BOTAZZI en explique ainsi le rôle et la nature chez *Aplysia limacina* :

« L'hépto-pancréas, pour assurer une forte réaction acide du contenu gastrique et par conséquent en empêcher la putréfaction, sécrète et verse dans l'estomac ce corps à fonction acide (acide pentosique) provenant de l'oxydation probable dans l'hépto-pancréas d'un groupe alhédydique d'un hydrate de carbone (pentosane alimentaire).... Il est certain que grâce à cette acidité le contenu gastrique entier (liquide et détritux alimentaires) peut être conservé pendant un certain nombre de jours (une semaine et plus) à une température relativement élevée (23°-27°) sans qu'on y observe de putréfaction, tandis que des morceaux d'*Ulva* triturés et broyés dans l'eau de mer commencent déjà, après vingt-quatre, trente-six heures à dégager une odeur marquée de putréfaction. »

FALLOISE (*loc. cit.*) croit que l'acidité des sucs digestifs d'*Octopus* et d'*Eledone* « n'est pas due à des acides minéraux libres, mais probablement à des sels acides. »

BIEDERMANN et MORITZ (1), chez *Helix*, attribuent une action antiseptique à l'acide lactique que l'on trouve dans le suc stomacal.

JORDAN (*loc. cit.*) doute que l'acidité du suc d'*Astacus* ait un rôle antiseptique utile, car il se putréfie très vite et devient alcalin. Cet auteur pense néanmoins que chez certains êtres,

(1) W. BIEDERMANN et MORITZ (1899), Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung III. Ueber die Funktion der sog. Leber der Mollusken. *Arch. ges. Physiolog.*, Bd. 78, p. 1, 86.

d'après les travaux de GREENWOOD (1) chez les Rhizopodes, de MOUTON (2) chez les Amibés, de NIERENSTEIN (3) chez *Paramœcium*, la réaction acide qui se produit dans les vacuoles au début de l'ingestion des substances alimentaires a un pouvoir antiseptique dû à un acide minéral libre, mais n'est nullement caractéristique d'une phase peptique de la digestion, contrairement à l'opinion de Metalnikoff (4).

Recherches personnelles

Les recherches effectuées sur un grand nombre de suc digestifs d'Invertébrés ont été faites au point de vue qualitatif et au point de vue quantitatif.

On a opéré de la façon suivante : Le suc digestif était recueilli sur l'animal vivant, à l'état de jeûne ou de digestion; son volume était exactement noté. On examinait aussitôt son action sur le papier bleu et rouge de tournesol, sur le rouge Congo, lequel était abandonné à l'air et examiné de temps en temps.

Lorsque le suc se montrait acide, on en dosait l'acidité dans ses divers facteurs : acidité forte, acidité faible, acidité après formol. L'acidité forte correspond, nous l'avons déjà dit, à celle qui est dosable au diméthylamidoazobenzol; elle est due à une acidité minérale libre. Les acides organiques et la combinaison des acides minéraux et des substances protéiques ne peuvent être dosés avec ce réactif.

Les corps acides insensibles au diméthylamidoazobenzol, mais dosables à la phtaléine, constituent l'acidité faible.

Enfin rappelons que l'acidité après formol, qui prend naissance

(1) M. GREENWOOD (1886), On the digestive Process in some Rhizopods. *Journ. Physiol.*, London, vol. 7, p. 253-273. — (1887), *Journ. Physiol.*, London, vol. 8, p. 263-287. — (1894), On the constitution and Mode of formation of « Food vacuoles » in Infusoria, as illustrated by the History of the Processus of digestion in *Carchesium polypinum*. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, vol. 135, p. 353-383.

GREENWOOD et SAUNDERS (1894), On the Role of Acid in Protozoan digestion. *Journ. Physiol.*, London, vol. 16, p. 441-467.

(2) Henri MOUTON (1902), Recherches sur la digestion chez les Amibes et sur leur diastase intra-cellulaire. *Ann. Inst. Pasteur*, ann. 16, p. 457-509.

(3) Edmund NIERENSTEIN (1905), Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Protisten. *Zeitschr. allg. Physiol.*, t. 5, p. 434-516.

(4) S. METALNIKOFF (1905), Ueber die intrazelluläre Verdauung. *Bull. Acad. Sc. Saint-Petersbourg*, t. 19, p. 187-193.

lorsque le liquide préalablement neutralisé est additionné de formol neutre, est due à la présence d'amino-acides.

Technique. — Quelques centimètres cubes de suc digestif sont versés dans un vase, puis additionnés de quelques centimètres cubes d'eau distillée et d'une ou deux gouttes de réactif de Töpfer. Si le liquide rougit, c'est qu'il contient un acide minéral libre. Il suffit de verser de la NaOH N/10 jusqu'à coloration jaune pour saturer cette acidité (acidité forte).

On ajoute alors une ou deux gouttes de phtaléine, puis de nouveau de la NaOH N/10 jusqu'à coloration rose. Enfin on ajoute encore 10 centimètres cubes de formol neutre au demi et on sature l'acidité mise en liberté par de la NaOH N/10 jusqu'à coloration rouge franche.

La quantité d'alcali nécessaire pour le titrage de l'acidité forte, faible, après formol est notée. Dans le tableau IV, cette acidité est exprimée par la quantité de NaOH N/10 nécessaire pour saturer l'acidité contenue dans 50 centimètres cubes de suc digestif (*Tableau IV*).

On constate que :

1° Aucun des sucs digestifs étudiés ne s'est montré alcalin à la phtaléine.

2° Aucun suc n'a pu bleuir le rouge Congo ni rougir le réactif de Töpfer. Donc, ils ne contiennent pas d'acides minéraux libres.

3° La réaction est variable au tournesol soit avec le même suc, soit avec des sucs différents. Elle est le plus souvent peu nette. Nous avons fréquemment observé que lorsque le papier bleu est imbibé de liquide digestif une teinte lie de vin apparaît aussitôt, puis disparaît peu à peu dès que le papier n'est plus humide. Au contraire, le papier rose reste intact tant qu'il est humide, mais laisse apparaître une légère teinte bleue après dessiccation.

Les réactions amphotères sont fréquentes, beaucoup plus fréquentes même que ne l'ont signalé les auteurs.

Les sucs pur recueillis sur l'animal à jeun sont chez certains Crustacés (*Maja*, *Cancer*) neutres au tournesol et parfois légèrement alcalins, acides chez d'autres (*Homarus*). Le suc du cæcum des Céphalopodes est constamment acide (*Loligo*).

L'examen particulier des sucs digestifs acides n'a jamais

TABLEAU IV

ESPÈCES ANIMALES	ÉTAT PHYSIOLOGIQUE	Acidité exprimée en NaOH N/10 pour 5 cc. de liquide			Réaction aux divers papiers réactifs			Millig. N pour 1 cc de Suc
		Acidité forte	Acidité faible	Acidité après formol	Tourmesol rouge	Tourmesol bleu	Rouge Congo	
Suc gastrique pur de Chien (Gastérine Frémont)		4,80	0,90	0,30		+ + +	+	0,40
		0,00 0,00 0,00	0,30 0,70 1,20	0,20 0,50 1,20	+ néant —	néant néant —	néant néant néant	3,48
Crustacés	<i>Maja</i> n° 1 n° 2 n° 3 à jeun id. en digestion	0,00 0,00 0,00	0,30 0,70 1,20	0,20 0,50 1,20	+ néant —	néant néant —	néant néant néant	3,48
	<i>Cancer</i> n° 1 n° 2 à jeun	0,00	0,40	0,35	+	néant	néant	
	<i>Homarus</i> n° 1 n° 2 à jeun	0,00	3,00	1,00	néant	—	néant	
Céphalopodes	<i>Sepia</i> n° 1 n° 2 n° 3 à jeun en digestion	0,00 0,00 0,00	0,40 0,90 1,80	1,20 1,50 2,80	+ néant néant	néant néant +	néant néant néant	12,32
	<i>Loligo</i> n° 1 n° 2 n° 3 — — —	0,00 0,00 0,00	40,00 9,00 12,00	49,00 18,00 20,00	néant néant néant	+ + + + +	néant — —	36,00 à 45,00
Gastéropodes	<i>Octopus</i> n° 1 n° 2 —	0,00 0,00						
	<i>Aplysia</i> n° 1 n° 2 n° 3 à jeun à jeun digestion	0,00 0,00 0,00	0,5 0,20 0,60	0,20 0,10 0,30	néant néant néant	+ néant néant	néant néant néant	2,5 à 3,5

décelé l'existence d'acidité forte titrable au diméthylamidoazobenzol, même lorsque l'acidité faible était élevée (3 chez *Homarus*, 9 à 12 du suc du cæcum de *Loligo*).

L'acidité faible et l'acidité après formol varient largement chez divers individus (de 0,3 à 12 pour l'acidité faible ; de 0,2 à 20 pour l'acidité après formol). Le suc du cæcum de *Loligo* se différencie très nettement de tous les autres sucs digestifs par le chiffre élevé de son acidité faible (9 à 12), de son acidité après formol (18 à 20) et par sa richesse en azote (36 à 45 milligrammes pour 1 centimètre cube de suc). Il contient toujours une grande quantité d'amino-acides, comme en témoigne l'acidité après formol et la réaction de l'eau bromée. Il suffit, en effet, d'y ajouter quelques gouttes d'eau bromée pour obtenir la réaction violette caractéristique du tryptophane.

Chez *Homarus*, l'acidité faible varie autour du chiffre 3, l'acidité après formol autour de 1.

Enfin chez des êtres tels que *Maja*, *Sepia*, on trouve un parallélisme évident entre l'acidité directe et l'acidité après formol. Les sucs digestifs d'*Aplysia fasciata* et d'*Aplysia punctata* ne se sont jamais montrés acides au tournesol. A la phthaléine et après formol, on trouve des chiffres extrêmement faibles (0,2 à 0,6 environ).

De ces faits se dégagent quelques conséquences précises. C'est d'abord l'absence d'acidité forte dans les sucs digestifs des Invertébrés ; ceci rend improbable l'existence d'un ferment peptique analogue à celui des Vertébrés, puisque la pepsine exerce surtout son action protéolytique en présence d'acidité forte.

D'autre part, le parallélisme observé, dans quelques cas, entre l'acidité directe à la phthaléine et après formol laisse supposer que les amino-acides représentent le principal facteur de cette acidité. BERTHELOT (1), en effet, a montré que les solutions pures d'amino-acides sont toujours acides à la phthaléine et au tournesol. SÖRENSEN (2) a indiqué aussi qu'elles sont acides au papier Lackmus. L'expérience, d'ailleurs, vient à l'appui d'une telle opinion. Si, en effet, on place au bain-marie à 40° une solution neutre de

(1) BERTHELOT, Sur l'acidité de quelques sécrétions animales. *Annales de Chimie et de Physique*, t. XXV, p. 28-29.

(2) SÖRENSEN, *Zeitschrift für physiol. Chemie*, vol. 63, fasc. I.

caséine ou de gélatine avec du suc digestif de *Maja* ou de *Sepia*, on trouve au bout d'un certain temps de digestion une réaction acide à la phtaléine, le papier bleu de tournesol est coloré en rouge vineux ; le papier rouge bleuit légèrement. Après addition de formol neutre, on constate une élévation notable de l'acidité, qui témoigne de la présence des amino-acides. Cette acidité s'est donc formée au cours du processus digestif. Les amino-acides constituent donc le facteur principal de l'acidité des sucs digestifs de beaucoup d'*Invertébrés* et en particulier de ceux de *Maja*, *Cancer*, *Sepia*, *Loligo*.

On dira, en résumé, que la plupart des sucs digestifs des Invertébrés sont habituellement neutres ou peu acides. Dans tous les cas, leur acidité paraît insuffisante pour permettre l'action pepsique. Son rôle antiseptique paraît bien peu important.

Chez certains êtres tels que Maja et Cancer pour les Crustacés décapodes, Sepia et Loligo, pour les Mollusques céphalopodes (suc du cæcum spiral), cette acidité est manifestement due aux amino-acides.

CHAPITRE IV

Etude de la Protéolyse chez quelques types d'Invertébrés

I

CRUSTACÉS DÉCAPODES

Anatomie de l'appareil digestif. — Chez les divers Crustacés du type *Maja* (fig. I), le tube digestif s'étend en ligne droite, sans aucune circonvolution, depuis l'estomac (*E*) jusqu'à l'anus. Dans presque toute sa longueur, il présente un revêtement interne de chitine, particulièrement épais au niveau de l'estomac (qui a un rôle masticateur), et de nombreuses glandes vraisemblablement destinées à fournir un liquide muqueux qui facilite la progression des aliments. La partie qui nous intéresse est le segment d'origine endodermique, faisant suite immédiatement à l'estomac et compris entre les deux cæcums antérieurs (*Ca*) et le cæcum postérieur (*Cp*) ; il est désigné sous le nom d'intestin moyen (*I*). Outre les trois cæcums, sont annexés à cette partie de l'intestin une multitude de tubes qui constituent un organe déversant un liquide jaune brun ; on l'a d'abord appelé foie, puis hépatopancréas (*F*) enfin organe entérique (GUIEYSSE).

Récemment GUIEYSSE (1) a donné une excellente description de l'intestin moyen, qui est particulièrement développé chez les *Maja*. Sa longueur y est plus grande que chez beaucoup d'autres genres ; les cæcums sont longs et flexueux. Toutes ces parties sont revêtues intérieurement de longs éléments cylindriques à plateau strié, tous semblables entre eux, sans différen-

(1) GUIEYSSE, Etude des organes digestifs chez les Crustacés. *Arch. d'anatomie microscopique*, t. IX, 1906-1907.

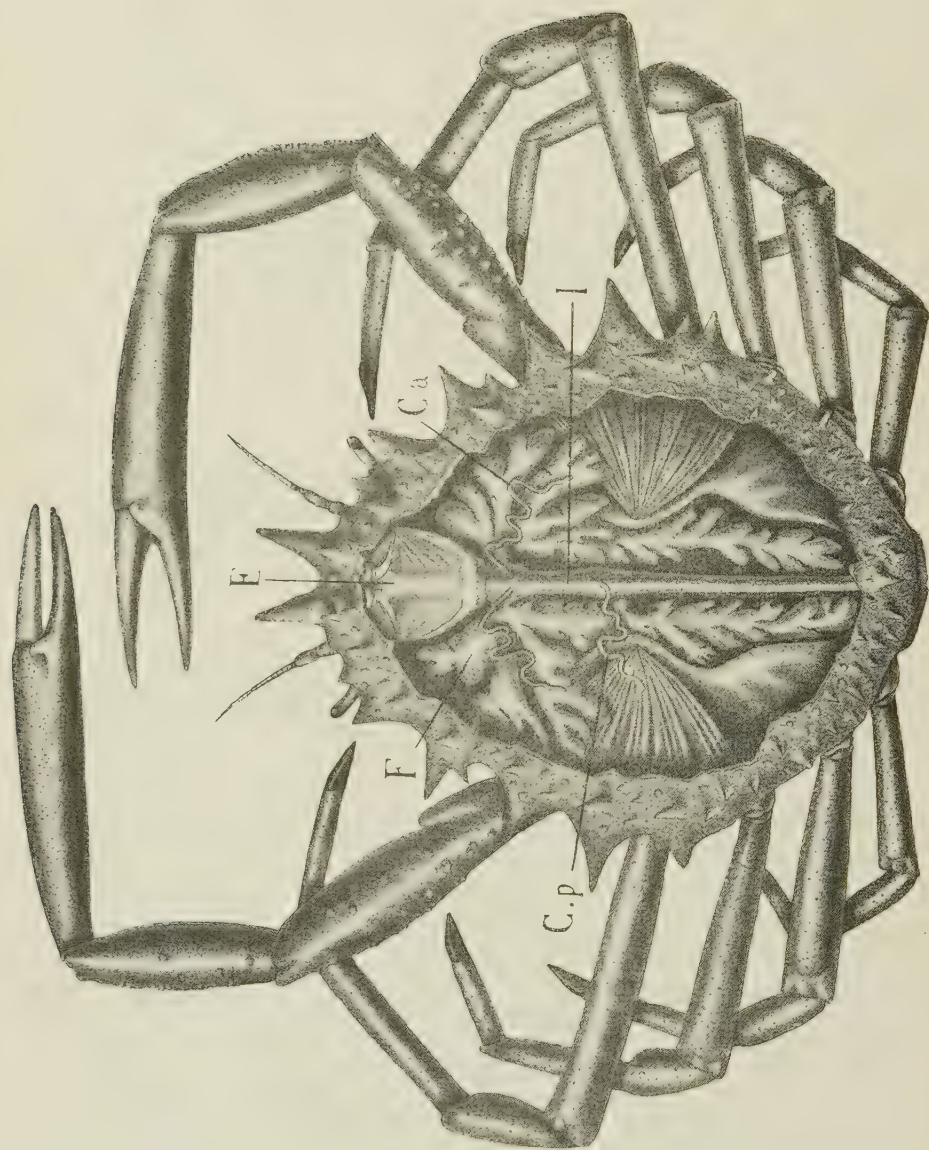


FIG. 1. — Appareil digestif de *Maia*.

E, Eslomac. — Ca, Cecum antérieur. — C.p, Cecum postérieur. — F, Hépatopancreas. — I, Intestin moyen.

ciation. Les culs-de-sac qui constituent l'hépatopancreas sont très longs et assez gros ; leurs cellules longues et minces, extraordinairement tassées les unes sur les autres, possèdent souvent plusieurs noyaux (*fig. 2*) ; une multitude de vacuoles décomposent le protoplasma comme une fine dentelle et sont souvent encombrées de graisse. Dans la partie moyenne de chaque cæcum, les cellules prennent un développement considérable ; certaines deviennent beaucoup plus hautes (jusqu'à 200 μ) et parfois présentent une grande vacuole. D'aspect assez varié, elles présentent toutes les marques d'une grande activité. Elles rempliraient deux fonctions principales : fonction d'absorption et fonction de sécrétion.

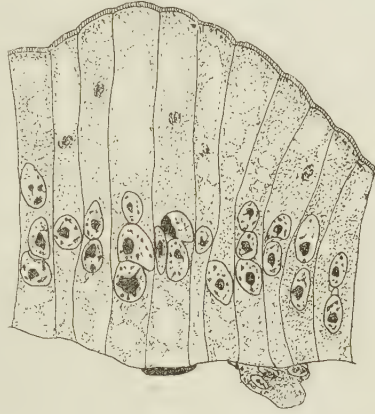


FIG. 2. — Cellules simples des cæcums entériques de *Carcinus maenas*.
(D'après GUIEYSSE)

Suc digestif. — Le suc digestif sécrété par la glande hépatopancréatique est déversé par plusieurs conduits dans la poche stomacale. Pour l'obtenir, STAMATI (1) eut le premier recours au procédé des fistules d'après un procédé indiqué par DASTRE. A cet effet, il faisait communiquer la poche stomacale avec l'extérieur par l'intermédiaire d'une canule métallique, fixée d'une façon spéciale sur la carapace de l'animal.

Cet auteur parvint ainsi à constater que « la sécrétion de la glande digestive est continue, puisqu'il y a toujours du liquide dans l'estomac. »

ACTION PROTÉOLYTIQUE

HOPPE-SEYLER (2) chez *Astacus fluviatilis*, CATTANEO (3) chez

(1) STAMATI, Recherches sur la digestion chez l'Ecrevisse. *Bulletin de la Société zoologique de France*, séance du 12 juin 1888., p. 147.

(2) HOPPE-SEYLER, Ueber Unterschiede im chemischen Bau und in der Verdauung höherer und niederer Tiere. *Pflüger's Archiv für Physiol.*, 14, 1876, p. 393-400.

(3) CATTANEO, Sulla struttura dell'intino dei Crustacei decapodi e sull' funzioni delle loro glandule enzimatiche. *Atti della Soc. italiana di Scienze natur.*, 30, 1887, p. 238-272.

Palinurus, *Homarus*, *Maja*, *Carcinus* et *Eriphia*, KRUKENBERG (1) chez diverses espèces, ont depuis longtemps signalé le pouvoir peptonisant que l'extrait aqueux du foie de ces Crustacés possède vis-à-vis de la fibrine.

HOPPE-SEYLER signale que le suc stomacal de l'Ecrevisse digère assez bien la fibrine crue, plus lentement les albumines coagulées. La digestion s'accomplit plus rapidement à 40° qu'à 15° ; une trace d'acide chlorhydrique la retarde, et 0,2 pour 100 l'arrête.

D'après KRUKENBERG, les ferments protéolytiques ne sont pas les mêmes chez les divers Crustacés. Chez *Homarus vulgaris* et *Nephrops norvegicus*, il n'y aurait que de la pepsine et pas de trypsine. Cette « homaro-pepsine », non identique à la pepsine des Vertébrés, n'agirait plus en présence d'acide oxalique et n'attaquerait pas les albumines coagulées. Les sucs digestifs d'*Eriphia spinifrons*, de *Squilla* ne contiendraient que de la trypsine et pas de pepsine. Au contraire, ceux d'*Astacus fluviatilis*, *Maja squinado*, *Palinurus vulgaris*, *Carcinus mænas* contiendraient à la fois les deux ferments.

Pour établir ce fait, l'auteur se base sur la destruction de la pepsine en présence de soude diluée, tandis que la trypsine résiste à l'action de la soude mais est détruite en présence de légères traces d'acidité chlorhydrique. Donc, tel suc qui agirait aussi bien en milieu faiblement alcalin qu'en milieu acide contiendrait les deux ferments.

Enfin KRUKENBERG met en doute l'identité de la trypsine d'*Astacus* et de celle des Vertébrés, car la première ne décomposerait pas les albumines jusqu'aux amino-acides. STAMATI (*loc. cit.*) signale aussi l'action peptonisante du suc digestif d'*Astacus* sur la fibrine ; mais cet auteur n'a étudié ni les conditions de milieu ni les produits de l'hydrolyse digestive.

JORDAN (*loc. cit.*) a trouvé que ni l'extrait hépato-pancréatique ni la sécrétion digestive d'*Homarus* et d'*Astacus* n'agissent en présence d'acide libre. Il conclut que, tant par la réaction du milieu d'action que par la nature des produits finaux de la digestion, les protéases des Crustacés se comportent comme la trypsine,

(1) KRUKENBERG, Vergleichend. physiologische Beiträge zur Kenntniss der Verdauungsvorgänge. *Unters. d. Physiol. Institut. Heidelberg*, 2, 1878, p. 1-43.

car il a pu caractériser du tryptophane, de la leucine et de la tyrosine.

Recherches personnelles sur la digestion protéolytique des Crustacés.

Toutes nos recherches ont été exécutées à l'aide de suc digestif recueilli directement dans la poche stomacale de grands Crustacés décapodes (*Maja squinado* et *Cancer pagurus*). On peut facilement s'en procurer, soit en enlevant la carapace à la face dorsale, au niveau de la poche stomacale et il suffit alors, après avoir incisé cette dernière, d'aspirer à l'aide d'une pipette le suc qu'elle contient, presque toujours assez abondamment; soit en pratiquant le cathétérisme par la voie buccale à l'aide d'une pipette munie d'une poire aspiratrice. Le liquide ainsi obtenu est brun foncé chez *Maja*, verdâtre chez *Cancer*. Il est neutre à la phthaléine, très légèrement alcalin au tournesol. Pendant le cours de la digestion, il est légèrement *acide* au tournesol, mais cette acidité, toujours faible, n'est jamais composée d'acide libre.

Etude qualitative du pouvoir protéolytique. — Le suc digestif des Crustacés, comme d'ailleurs celui de tous les Invertébrés à pouvoir protéolytique, agit directement sur les diverses substances protéiques. Point n'est besoin d'employer des agents activateurs analogues à ceux qui sont indispensables à l'action du suc pancréatique des animaux supérieurs.

EXPÉRIENCES

Action sur l'ovalbumine. — Un cube de blanc d'œuf cuit — (3 minutes à 90°), du poids de 250 milligrammes, est mis dans un tube à essai avec du suc digestif de *Maja* (4 centimètres cubes), — au bain-marie à 40°. Après 24 heures, il est totalement digéré.

Dans les mêmes conditions, ce suc digestif dissout 18 millimètres d'un tube de METTE, en 36 heures.

Action sur la gélatine. — 4 centimètres cubes de gélatine neutralisée, à 10 pour 100, sont additionnés de 0 cc. 1 de suc digestif de

Maja. Après 3 heures au bain-marie à 40°, la gélification ne se produit plus lorsqu'on place le tube à essai dans l'eau refroidie.

Action sur le lait. — Si à 10 centimètres cubes de lait de vache, dans un tube à essai placé au bain-marie à 40°, on ajoute une goutte de suc digestif de *Maja*, la coagulation du lait se produit promptement (4 minutes environ). On peut retourner le tube sans laisser tomber une goutte de liquide. Mais bientôt le coagulum commence à se dissoudre et après quelques heures, il a disparu presque complètement. Le lait a été transformé en une liqueur claire. Les acides (HCl, AzO³H), ajoutés goutte à goutte à ce liquide de digestion, ne donnent pas de précipité. La caséine a donc été digérée.

Etude du milieu d'action. — Plusieurs procédés peuvent être utilisés. On peut, par exemple, acidifier ou alcaliniser le suc digestif et déterminer ensuite son pouvoir protéolytique. Toutefois, on ne doit acidifier que faiblement, car il est indispensable de ne pas précipiter la matière albuminoïde, ce qui entraînerait une notable partie du ferment. La même remarque s'applique à l'acidification de la matière à digérer, surtout si l'on emploie des solutions de matières protéiques natives, puisque la caséine du lait précipite dès que l'acidité lactique atteint un certain degré. On opérera donc en milieu ne produisant pas de précipitation.

EXPÉRIENCES

On met dans un tube à essai (*a*) placé au bain-marie à 40°, 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja* + 0 cc. 1 de HCl N/5 + 0 cc. 4 de H²O + tube de METTE = acidité pour 1.000, 0,7. Après 40 heures, pas trace de digestion.

Tube b. — 0 cc. 5 suc digestif de *Maja* + (0) d'HCl N/5 + 0 cc. 5 d'H²O + tube de METTE = acidité pour 1.000, (0). Après 40 heures, 18 millimètres sont digérés.

Tube c. — 0 cc. 5 suc digestif de *Maja* + 0 cc. 1 CO³Na² N/5 + 0 cc. 4 d'H²O + un tube de METTE = alcalinité 1,0 pour 1.000. 8^{mm}7 sont digérés.

Tube d. — 0 cc. 5 suc digestif de *Maja* + 0,3 CO³Na² N/5 + 0 cc. 2 d'H²O + un tube de METTE = alcalinité 3,1 pour 1.000. Pas trace de digestion.

Ces expériences montrent nettement que le milieu le plus favorable à l'action du ferment est le milieu neutre.

SENSIBILITÉ DU SUC DIGESTIF A L'ACIDE ET A L'ALCALI

On varie l'expérience en recherchant comment se comporte l'action protéolytique en milieu acide (HCl) ou alcalin (CO_3Na^2), car la pepsine est détruite rapidement en milieu alcalin tandis que la trypsine, non altérée en milieu alcalin, perd ses propriétés en milieu acide.

EXPÉRIENCES

Dans un tube à essai (*a*) on introduit 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja* + 0 cc. 1 d'HCl N/5 + 0,4 H^2O . Acidité pour 1.000 = 0,7.

Tube b. — 0 cc. 5 suc de *Maja* + (0) d'HCl N/5 + 0,5 H^2O . Acidité pour 1.000 = (0).

Tube c. — 0 cc. 5 suc de *Maja* + 0,3 CO_3Na^2 N/10 + 0,2 H^2O . Alcalinité pour 1.000 = 1,5.

Tube d. — 0 cc. 5 suc de *Maja* + 0 cc. 5 CO_3Na^2 N/10 + (0) H^2O . Alcalinité = 2,6 pour 1.000.

On neutralise exactement après 12 heures et on ramène au même volume par addition de H^2O . On introduit alors dans chaque tube à essai un tube de METTE et on porte au bain-marie à 40°.

Résultats après 12 heures : *Tube a*, dissolution de 2^{mm}8 ; *tube b*, 10^{mm}5 ; *tube c*, 10 millimètres ; *tube d*, 6 millimètres.

La diastase paraît donc encore ici s'accommoder mieux du milieu neutre que du milieu acide où elle a été en partie détruite. Le milieu alcalin, dans nos conditions d'expériences, lui a été moins rapidement nuisible.

ÉTUDE DE L'ACTION HYDROLYTIQUE

Ces expériences confirment, mais en les précisant, des faits déjà en partie connus. Nous allons maintenant déterminer la valeur hydrolytique de ce suc digestif. De ce côté rien n'avait encore été fait.

Il est cependant du plus grand intérêt de savoir comment un ferment protéolytique décompose la matière protéique. C'est là le caractère qui permettra de le distinguer.

Amène-t-il la dégradation de la matière albuminoïde seulement jusqu'à la phase de peptone ? Est-il capable de libérer des acides aminés ? Quelle est son action sur les polypeptides ?

VALEUR DIGESTIVE COMPARÉE D'APRÈS LA NATURE DU MILIEU
D'ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Maja* ET DE LA PEPSINE

Voici une série d'expériences qui ont été réalisées en suivant la technique exposée au chapitre premier.

Préparation de la solution protéique. — Nous avons employé l'ovalbumine liquide qui, comme on sait, est facilement digérée par la pepsine, mais difficilement attaquée par la trypsine ; toutefois, certaines précautions doivent être prises pour éviter sa précipitation par le milieu acide. Nous avons employé le procédé suivant déjà utilisé par SÖRENSEN.

On dilue au quart 50 centimètres cubes d'ovalbumine par une solution physiologique de NaCl. On ajoute 4 centimètres cubes d'HCl normal. On agite. Un précipité se forme. On laisse reposer 24 heures à la glacière. On filtre. Le filtrat est limpide, mais il est encore riche en matière protéique. Il peut être acidifié ou alcalinisé sans précipiter.

A) 120 centimètres cubes de ce filtrat + 10 centimètres cubes d'eau distillée ne renferment pas d'acidité libre sensible au diméthylamidoazobenzol. Acidité faible à la phtaléine = 1 pour 1.000.

B) 60 centimètres cubes de ce même filtrat + 5 centimètres cubes d'HCl normal donnent une solution qui contient : Acidité forte = 2 pour 1.000 + acidité faible = 1 pour 1.000.

Préparation de la solution de ferment. — 1° On dissout dans 15 centimètres cubes d'eau 0 gr. 500 de pepsine du commerce (titre 100) ; 2° on mélange 1 cc. 5 de suc digestif de *Maja* à 13 cc. 5 d'H₂O.

EXPÉRIENCES

Tube a. — Il contient 20 centimètres cubes de la solution protéique A faiblement acide + 5 centimètres cubes de solution de pepsine. On dose immédiatement dans ce mélange N¹, (N² + N³), N³.

Tube b. — Il renferme les mêmes substances, mais on le porte aussitôt au bain-marie à 40° où on le laisse 15 heures. On dose alors (N² + N³), N³.

Tube c. — Il renferme 20 centimètres cubes de la solution protéique B + 5 centimètres cubes de solution de pepsine. Le mélange est porté 15 heures à 40°. On dose (N² + N³), N³.

Des mélanges identiques sont faits en substituant à 5 centimètres cubes de solution de pepsine 5 centimètres cubes de suc digestif de *Maja*. Les mêmes dosages sont effectués.

TABLEAU V

MILIEU D'ACTION	SUCS DIGESTES	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)						GAIN NET		RAPPORTS	
		N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ⁵	N ⁶	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Acidité faible 1 gramme pour 1.000	Pepsine	Avant digestion	66,70	57,74	4,48	4,48	—	—	—	—	—
		Après digestion	66,70	55,74	6,38	4,58	0,40	1,90	3,5	49,0	—
	<i>Maja</i>	Avant digestion	83,60	72,29	4,48	6,83	—	—	—	—	—
		Après digestion	83,60	58,39	13,48	41,73	4,90	9,00	19,3	1,8	—
Acidité faible 1 gramme pour 1.000 + Acidité forte 2 grammes pour 1.000	Pepsine	Avant digestion	66,70	57,74	4,48	4,48	—	—	—	—	—
		Après digestion	66,70	00,00	60,00	6,70	2,22	55,52	100,00	25,0	—
	<i>Maja</i>	Avant digestion	83,60	72,29	4,48	6,83	—	—	—	—	—
		Après digestion	83,60	72,29	4,48	6,83	0,00	0,00	0,00	—	—

Les résultats obtenus sont indiqués dans le Tableau V. L'activité protéolytique globale exprimée par le rapport

$$\frac{100 (N^2 + N^3)}{N^1}$$

a été très faible pour la pepsine en milieu à acidité faible (3,5 pour 100).

Le suc digestif de *Maja* dans ce même milieu a eu une action digestive beaucoup plus élevée (19,3 pour 100).

En milieu fortement acide, au contraire, la digestion pepsique a été complète (100 pour 100), tandis que celle de *Maja* a été nulle (0 pour 100).

Les indications fournies par le rapport $\frac{N^2}{N^1}$ sont intéressantes :

Pour la pepsine, en acidité faible, il égale 19, et 25 en acidité forte.

Pour le suc digestif de *Maja*, en acidité faible, il égale seulement 1,8.

Comme nous le savons, plus le facteur N^3 sera faible, plus la valeur du rapport sera élevée, toutes choses égales.

Avec un suc gastrique pur, N^3 doit être nul, en conformité avec les recherches récentes d'ABDERHALDEN, établissant que, dans les conditions physiologiques ordinaires, la pepsine n'amène pas la dégradation des substances protéiques jusqu'aux amino-acides. Or, les pepsines commerciales étant toujours plus ou moins souillées de trypsine et d'érepsine, la valeur de N^3 dans ces conditions d'expérience est toujours appréciable.

Quoi qu'il en soit, l'étude de ce rapport fournit des indications dignes d'être retenues. Le suc digestif de *Maja* se distingue très nettement de la pepsine tant par les conditions de milieu qu'il réclame pour agir que par la nature des produits digestifs

formés. Le rapport $\frac{N^2}{N^1}$ étant voisin de l'unité, on doit en conclure que, dans nos conditions d'expériences, l'action éreptique est à peu près égale à l'action peptonisante.

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Maja* SUR DIVERSES MATIÈRES PROTÉIQUES

Il était intéressant de connaître l'action protéolytique globale d'une part, peptonisante et éreptique d'autre part sur diverses matières protéiques.

EXPÉRIENCES

Action sur la caséine. — On prend 21 cc. 5 de lait dégraissé et dilué de moitié. On ajoute 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja*. On prélève à ce mélange 2 centimètres cubes pour le dosage N^1 (azote total); 5 centimètres cubes servent au dosage de $(N^2 + N^3)$, 5 centimètres cubes au dosage de N^3 .

Les 10 centimètres cubes qui restent sont laissés 15 heures à 40°.

Après digestion, on dose $(N^2 + N^3)$ et N^3 , comme précédemment, dans 5 centimètres cubes de liquide. Les résultats exprimés en Az sont rapportés à 20 centimètres cubes de liquide.

Action sur l'ovalbumine. — On neutralise de la solution d'ovalbumine obtenue comme il a été indiqué plus haut. On en prend 21 cc. 5 qu'on additionne de 0 cc. 5 de suc digestif et on effectue les mêmes dosages que précédemment.

Action sur divers sérums sanguins d'Invertébrés. — Ces sérums sont riches en substances protéiques, comme en témoigne le dosage de N^1 . Ils sont préalablement dilués de moitié avec une solution physiologique de NaCl. 21 cc. 5 sont additionnés de 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja* et l'expérience est conduite comme précédemment.

Le Tableau VI (p. 54) contient les résultats obtenus.

L'activité protéolytique globale

$$\frac{100 (N^2 + N^3)}{N^1}$$

est variable suivant les diverses substances albuminoïdes employées.

La caséine a été parfaitement digérée (96,7 pour 100).

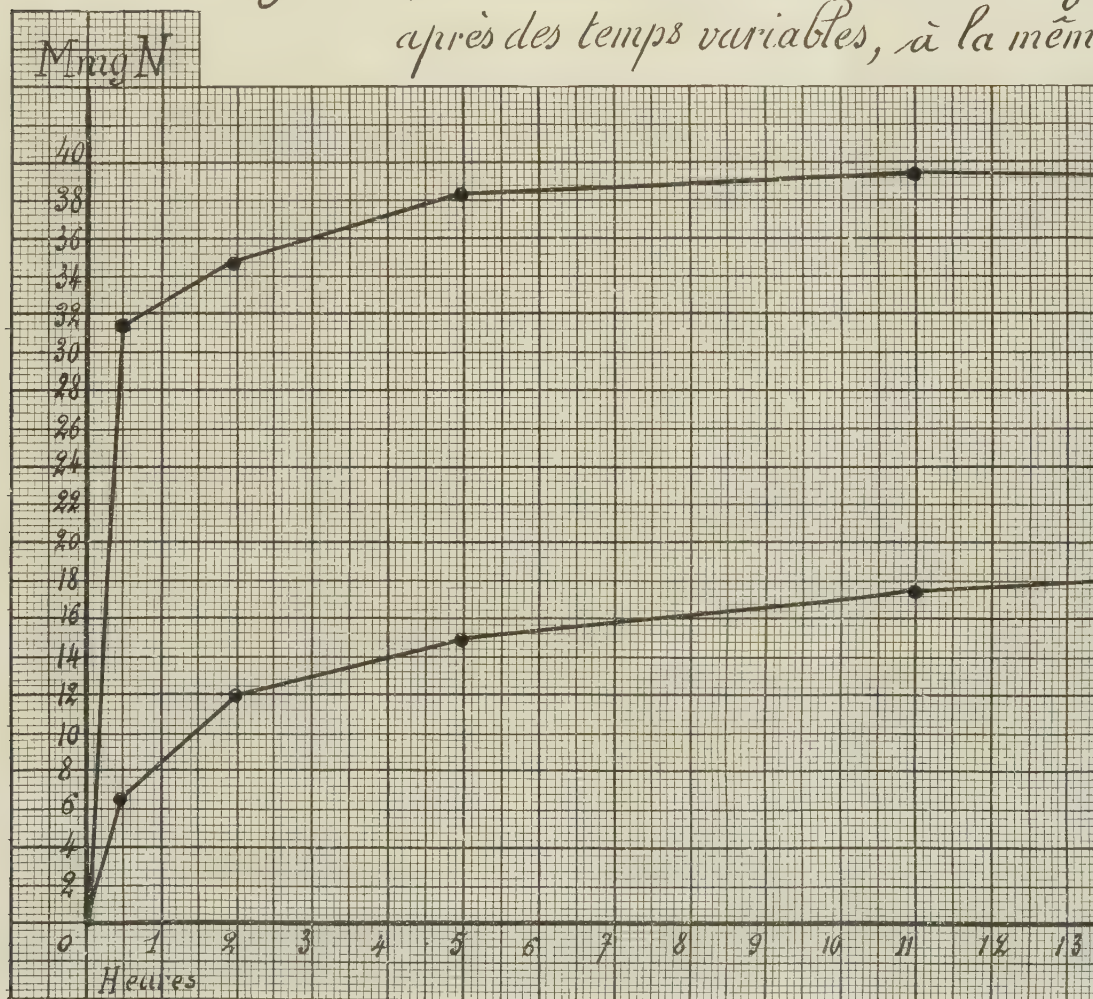
L'ovalbumine, au contraire, a été faiblement attaquée (10 pour 100).

Les sérums ont été digérés dans des proportions variables : 70,6 pour 100 pour *Homarus*, 55,9 pour 100 pour *Sepia*, 52,7 pour 100 pour *Cancer*, 44,8 pour 100 pour *Maja*.

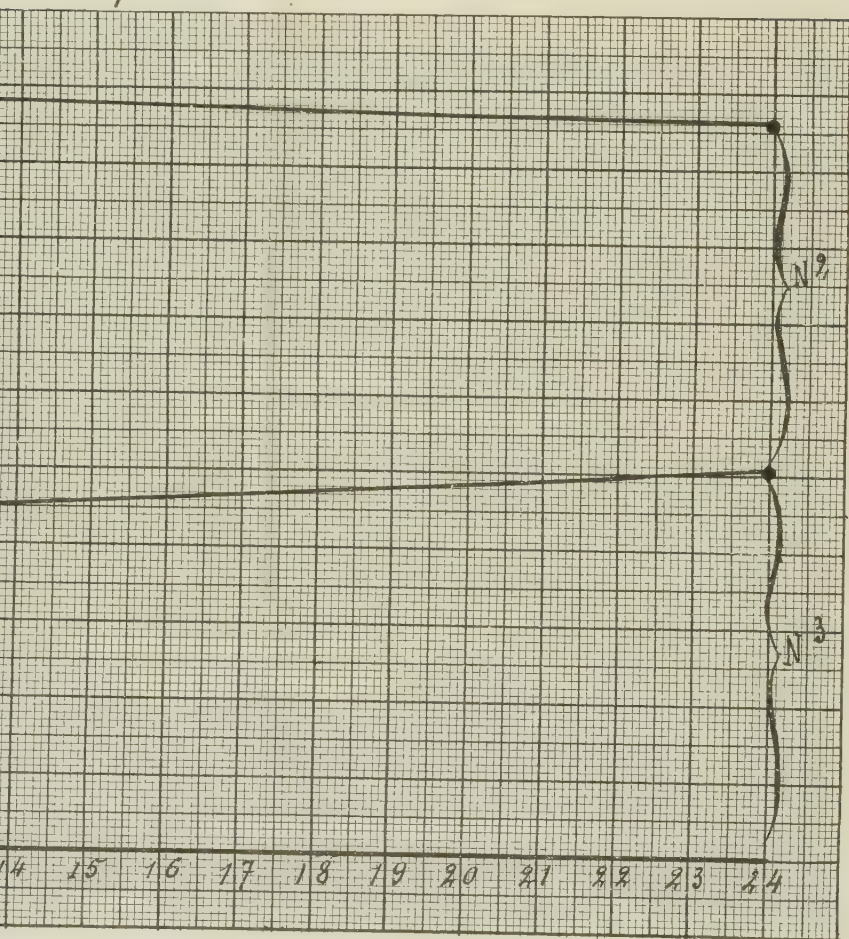
TABLEAU VI

SOLUTIONS PROTÉIQUES	DURÉE DES DIGESTIONS	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)				GAIN NET		RAPPORTS	
		N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^4}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Caséine	Avant digestion	48,00	44,26	0,94	2,80				
	Après 15 heures	48,00	1,70	21,40	23,20	20,46	22,40	96,7	0,9
Ovalbumine	Avant digestion	70,00	61,40	4,43	4,43				
	Après 15 heures	70,00	34,88	7,28	7,84	2,83	3,39	40,00	0,8
Sérum de <i>Maja</i>	Avant digestion	70,00	63,52	0,00	4,48				
	Après 15 heures	70,00	36,40	13,12	18,48	13,12	14,00	44,80	4,0
Sérum de <i>Cancer</i>	Avant digestion	74,00	70,64	0,00	3,36				
	Après 15 heures	74,00	33,72	19,00	21,28	19,00	17,92	52,7	4,0
Sérum de <i>Homarus</i>	Avant digestion	98,00	92,40	0,00	5,60				
	Après 15 heures	98,00	27,44	33,60	36,96	33,60	31,36	70,6	4,0
Sérum de <i>Sepia</i>	Avant digestion	86,00	82,64	0,00	3,36				
	Après 15 heures	86,00	36,74	23,30	25,76	23,30	22,40	55,9	4,0
Gélatine neutre	Avant digestion	120,00	—	—	4,48				
	Après 15 heures	120,00	—	—	39,20	—	34,72	28,9	—

N°1. Graphique montrant l'action du Suc dig
après des temps variables, à la même



estif de Maja sur la Caséine
température



Le rapport $\frac{N^2}{N^3}$ a une constance remarquable dans toutes ces expériences. Il est voisin de l'unité. Il montre que les quantités de peptones et d'acides aminés libérés sont sensiblement égales.

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Maja* SUR LA CASÉINE, APRÈS DES TEMPS VARIABLES A LA MÊME TEMPÉRATURE

L'attaque facile de la caséine par le suc digestif de *Maja* nous a engagé à faire une étude spéciale de ce processus digestif après des temps variables à la même température, dans le but de préciser davantage les propriétés du ferment.

EXPÉRIENCES

On prend 80 centimètres cubes de lait dilué de moitié, on l'additionne de 2 centimètres cubes de suc digestif de *Maja*. On fait des prises pour doser N^1 , $(N^2 + N^3)$, N^3 : 2 centimètres cubes pour N^1 , 5 centimètres cubes pour $(N^2 + N^3)$, 5 centimètres cubes pour N^3 . On porte au bain-marie à 40° le liquide de digestion. Après 30 minutes, 2 heures, 5 heures, 11 heures, 23 heures, on fait de nouvelles prises de 5 centimètres cubes pour déterminer la valeur de $(N^2 + N^3)$ et de N^3 . (V. *Tableau VII*, p. 56.)

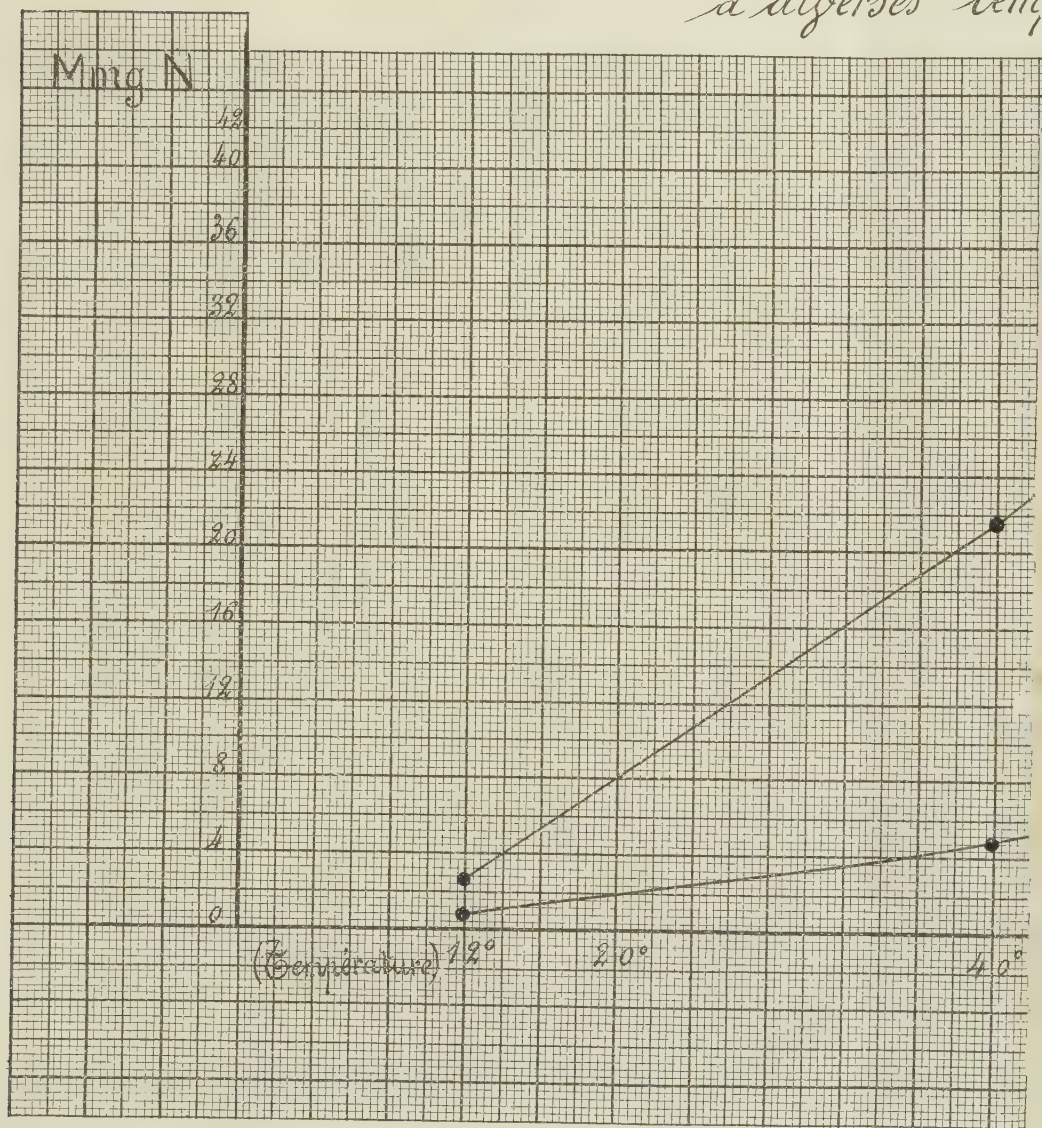
On constate qu'après 30 minutes, 77 pour 100 de la caséine ont déjà été digérés. L'action se ralentit dans la suite pour aboutir progressivement à un maximum voisin du reste de la digestion totale (93 pour 100) après 11 heures. A partir de ce moment, il paraît se former dans le milieu digestif de nouveaux corps précipitables par l'acide trichloracétique, car, après 23 heures, 90,6 pour 100 seulement de la caséine restent digérés. Ce phénomène s'est reproduit dans chacune de nos expériences, nous n'avons pas réussi à en trouver une explication satisfaisante.

Les variations du rapport $\frac{N^2}{N^3}$ sont intéressantes : On remarque sa diminution progressive à partir de 30 minutes : de 3,6 il aboutit à 0,8 après 13 heures ; cela signifie que la peptonisation est très rapide dès le début de la digestion, la mise en liberté des acides aminés est au contraire progressive.

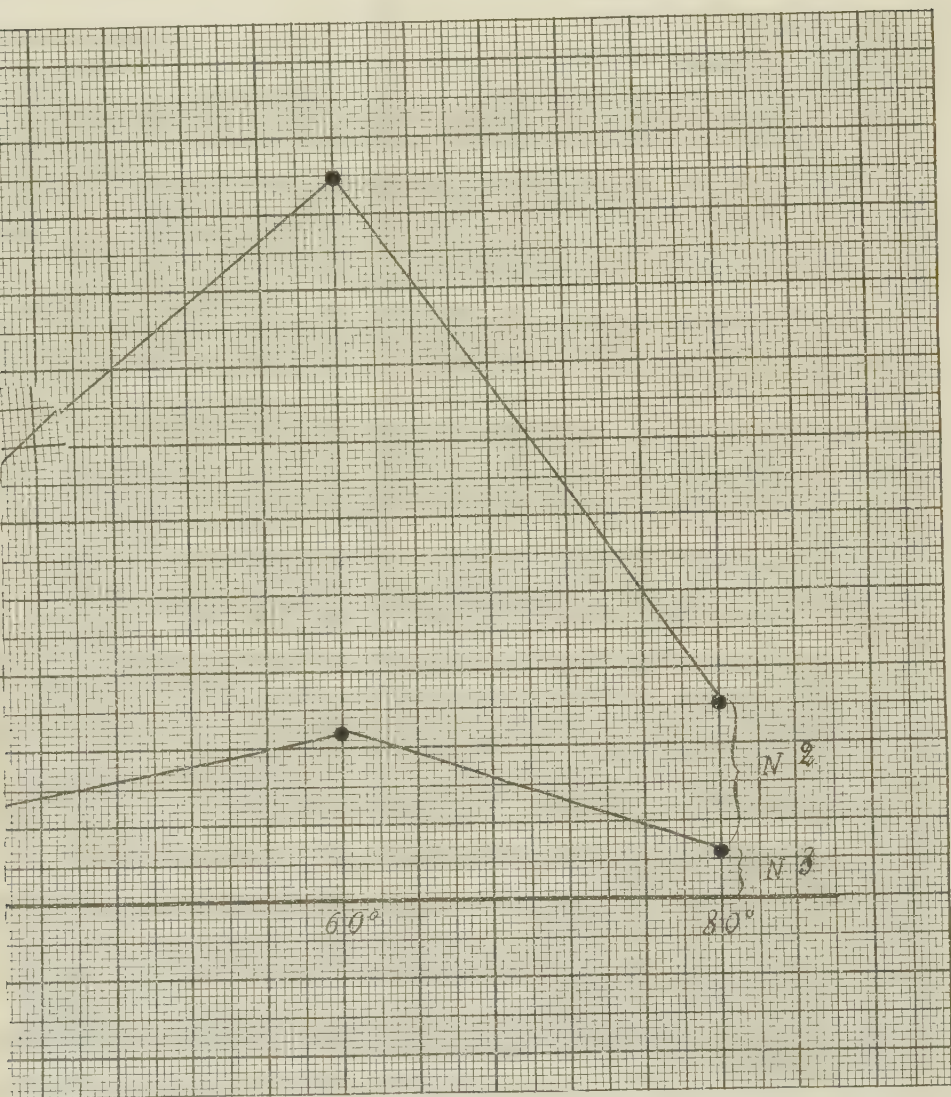
TABLEAU VII

TEMPS	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)				GAIN NET			RAPPORTS	
	N ¹	N ²	N ³		N ² +N ³	N ²	N ³	$\frac{100 (N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Avant digestion . . .	47,60	42,00	2,24	3,36			—		
Après 30 minutes . .	47,60	40,64	26,88	40,08	31,36	24,64	6,72	77,0	3,6
— 2 heures . . .	47,60	7,28	24,96	13,36	34,72	22,72	42,00	82,6	4,9
— 3 heures . . .	47,60	3,92	23,22	48,46	38,08	22,98	13,10	90,6	4,3
— 4 heures . . .	47,60	2,80	24,19	20,61	39,20	21,93	17,23	93,3	4,2
— 25 heures . . .	47,60	3,92	20,46	23,52	38,08	17,92	20,16	90,6	0,8

N^o 2 Graphique montrant l'action du Su
à diverses temp



c digestif de Maja sur la Caséine
températures



La peptonisation atteint vite le degré maximum pour diminuer ensuite du fait de la formation des acides aminés.

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Maja* SUR LA CASÉINE A DIVERSES TEMPÉRATURES

EXPÉRIENCES

Dans une série de tubes à essais contenant 21 cc. 5 de lait dilué de moitié, on ajoute 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja*. Dans l'un de ces tubes (témoin) on fait des prises immédiates pour le dosage de N^1 , $(N^2 + N^3)$, N^3 . On place les autres au bain-marie à des températures variables : 12°, 40°, 60°, 80° pendant 10 minutes.

On dose ensuite dans chaque tube $(N^2 + N^3)$, N^3 . (V. Tableau VIII, p. 58.)

Le maximum d'action s'est accompli à 60° : 90,6 pour 100 de la caséine ont été digérés, à 40°, il n'y en a eu que 51,7 pour 100 seulement et à 80°, 24 pour 100.

Le rapport $\frac{N^3}{N^2}$ est voisin de 3,5 sauf à 12°, mais vu la très petite quantité de substance transformée à cette température, il n'y a pas lieu d'attacher d'importance à ce résultat.

ACTION HYDROLYTIQUE COMPARÉE DE DIVERS SUCS DIGESTIFS DE CRUSTACÉS SUR LES MATIÈRES PROTÉIQUES

Nous avons étudié comparativement sur la caséine, la gélatine et le sérum de *Cancer pagurus* l'action protéolytique de *Maja*, *Cancer* et *Homarus*.

EXPÉRIENCES

On prend 21 cc. 5 de lait dilué de moitié auquel on ajoute 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja*, *Cancer*, *Homarus*. On dose avant digestion, N^1 , $(N^2 + N^3)$, N^3 , en prélevant les quantités nécessaires à ces divers dosages : 2 centimètres cubes pour N^1 , 5 centimètres cubes pour $(N^2 + N^3)$, 5 centimètres cubes pour N^3 . Après 15 heures de digestion $(N^2 + N^3)$ et N^3 sont déterminés. On fait la même expérience avec une solution de gélatine à 5 pour 100, mais ici on dose seulement N^1 et N^3 . Même expérience avec une solution de sérum de *Cancer pagurus* dilué de moitié. (V. Tableau IX, p. 59).

TABLEAU VIII

TEMPÉRATURE	RÉPARTITION DE N (en 20 cc.)				GAIN NET			RAPPORTS	
	N	N ¹	N ²	N ³	N ¹ + N ²	N ²	N ³	$\frac{100 (N^2 + N^3)}{N^1}$	$\frac{N^3}{N^1}$
Avant digestion	47,60	42,00	2,24	3,36					
12°	47,60	38,64	4,48	4,48	3,36	2,24	4,12	8,00	2,0
40°	47,60	20,26	49,30	7,84	21,74	17,26	4,48	34,76	3,9
60°	47,60	3,93	34,33	42,32	38,05	29,09	8,96	90,66	3,2
80°	47,60	31,92	10,08	3,60	10,08	7,84	2,24	24,00	3,5

La caséine a été bien digérée par les trois sucs ; celui de *Maja* est le plus actif (95,6 pour 100), puis vient celui de *Cancer pagurus* (80,0 pour 100) et enfin celui de *Homarus* (65,6 pour 100).

La gélatine a été facilement décomposée en corps aminés et ici encore le suc digestif de *Maja* s'est montré le plus actif : *Maja* (30,2 pour 100), *Cancer* (17,3 pour 100), *Homarus* (10,7 pour 100).

Seul le suc digestif de *Maja* a attaqué le sérum de *Cancer pagurus* (3,7 pour 100).

Ceux de *Cancer* et de *Homarus* se sont montrés à peu près inactifs (4,2 pour 100).

Dans l'action sur la caséine, la valeur du rapport $\frac{N_2}{N_3}$ a été de 0,4 pour le suc de *Maja*, 1,1 pour les deux autres.

Les sucs de *Cancer* et de *Homarus* ont donc une action éreptique sensiblement égale à leur action peptonisante.

Le chiffre peu élevé de *Maja* (0,4) s'explique si l'on se rappelle l'action de ce suc sur la caséine et la diminution de ce rapport avec le temps de digestion.

Enfin, constatons que l'attaque de la caséine par le suc digestif de *Homarus* s'est faite en milieu neutre suivant le processus tryptique. Ceci contredit nettement l'opinion de KRUKENBERG qui a soutenu que ce suc contenait seulement de la pepsine.

En résumé, ces expériences nous permettent de formuler les conclusions suivantes :

Le suc digestif de *Maja* dissout facilement l'ovalbumine coagulée. Il liquéfie rapidement la gélatine. L'action sur l'ovalbumine, maxima en milieu neutre, est affaiblie en milieu alcalin, totalement supprimée en milieu acide.

L'activité hydrolytique globale peu considérable sur l'ovalbumine en milieu d'acidité faible, est nulle en milieu d'acidité forte. Le rapport $\frac{N_2}{N_3}$ est voisin de 1 ; c'est là une indication en faveur du processus tryptique.

En milieu neutre, le suc digestif de *Maja* a digéré facilement les diverses albumines soumises à son action, plus faiblement l'ovalbumine qui présente, comme on sait, une résistance spéciale à l'action de la trypsine.

La caséine du lait a été très bien digérée (96,5 pour 100). Il en est de même des albumines du sérum d'Invertébrés (45 à 70 pour 100). Dans tous les cas le rapport $\frac{N^2}{N^3}$ a seulement varié entre 0,8 et 1,07. Ceci signifie que, dans nos conditions expérimentales, l'activité peptonisante et l'activité éreptique ont été sensiblement égales ou, en d'autres termes, que les quantités d'albumoses et de peptones formées (N^2) équivalent la quantité d'acides-amino libérés (N^3). L'expérimentation avec la trypsine, fournit des résultats analogues.

L'action du suc digestif de *Maja* sur la caséine dans diverses conditions expérimentales, après des temps variables à la même température, à diverses températures après un même temps, nous a fourni quelques renseignements intéressants.

La peptonisation est très rapide au début. Le chiffre maximum (N^2) est atteint après 30 minutes (24 milligr. 64) puis il décroît peu à peu jusqu'à 17,92 après 25 heures. La mise en liberté des acides-amino suit une marche inverse, de 6,72 après 30 minutes jusqu'à 20,16 après 25 heures, de telle sorte que le rapport $\frac{N^2}{N^3}$ diminue progressivement de 3,6 à 0,8.

La température accélère le processus digestif jusqu'au voisinage de 60° où il est optimum.

Enfin, le suc digestif de *Maja* se distingue nettement, par sa plus grande activité, de ceux de *Cancer* et de *Homarus*; mais dans tous les cas le rapport $\frac{N^2}{N^3}$ est resté voisin de 1.

La diastase protéolytique du suc digestif des Crustacés digère donc les matières protéiques à la façon de la trypsine.

MOLLUSQUES CÉPHALOPODES

Anatomie de l'appareil digestif. — Le tube digestif de la Seiche, qui débute par un bulbe buccal (*B*) armé de deux puissantes mandibules cornées et d'une radula chitineuse, est recourbé en U (*fig. 3*). Au niveau de la courbure se trouvent deux dilatations : la première (*E*) est dite estomac ; la seconde (*C*), sac pylorique ; celle-ci est l'homologue du cæcum d'autres espèces.

La structure de l'intestin est constante sur toute sa longueur ; on ne rencontre aucune glande dans ses parois, en sorte que la digestion s'y effectue grâce aux liquides apportés des glandes annexes.

Ces glandes sont :

1° Les glandes salivaires (*G. s*) ou glandes muco-pharyngiennes ; elles débouchent, par un canal commun, à la face dorsale du bulbe buccal et ne paraissent pas exercer d'action digestive ;

2° Le foie (*F*), formé de deux masses distinctes, situées de part et d'autre de l'œsophage ; ses canaux excréteurs se jettent dans le sac pylorique.

3° Ceux-ci sont recouverts d'appendices d'aspect spongieux (*P*), de couleur brunâtre, souvent considérés comme les analogues fonctionnels du pancréas des animaux supérieurs.

Chez le Calmar, la disposition est fondamentalement la même (*fig. 4*). Toutefois, 1° les deux lobes du foie paraissent fusionnés et les deux canaux hépatiques (*P*) se réunissent en un seul ; 2° les appendices pancréatiques (*P*) font à peine saillie sur la paroi de ces canaux.

Pour CUÉNOT (1), le foie des Céphalopodes est non seulement un organe formateur de diastases et accumulateur de réserves, mais aussi le lieu d'absorption des produits de la digestion et un

(1) L. CUÉNOT, Fonctions absorbante et excrétrice du foie des Céphalopodes. *Arch. de Zoolog. expérimentale et générale*, IV^e série, t. VII, p. 227-243, 23 août 1903.

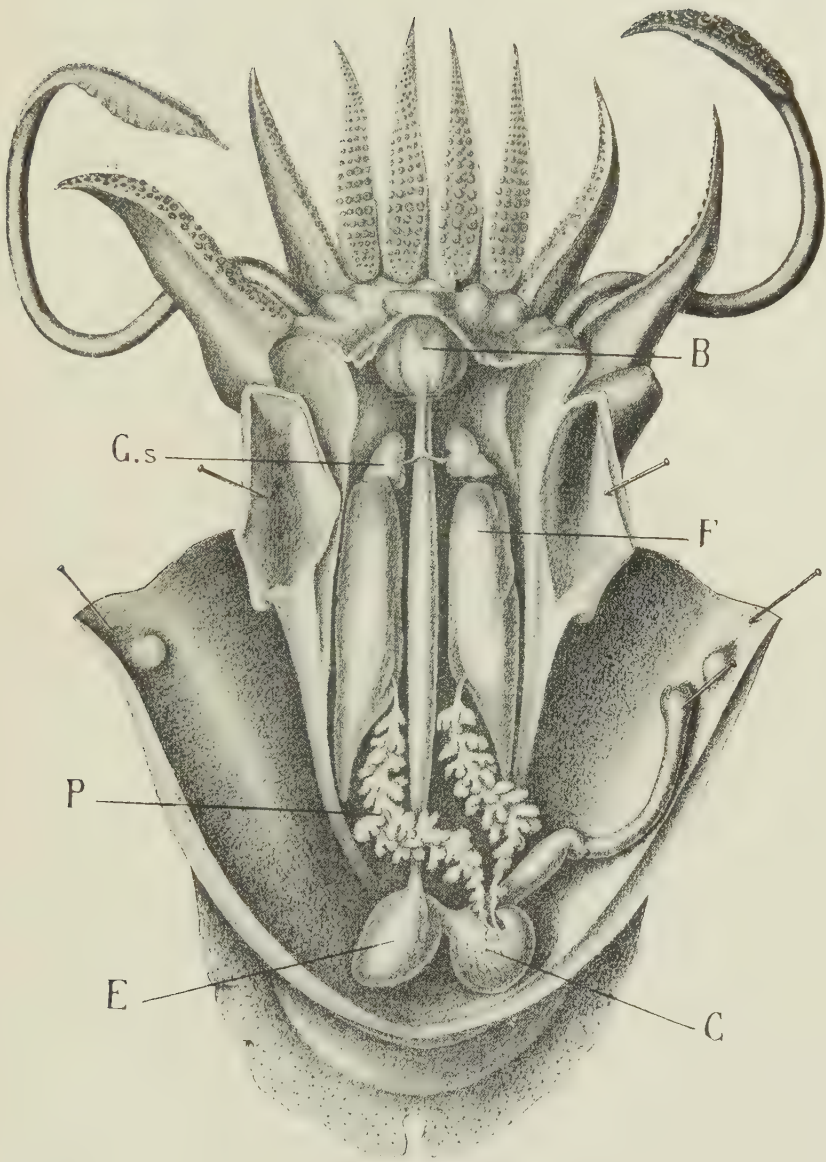


FIG. 3. — Appareil digestif de la *Seiche*

B. Bulbe buccal. — G. s. Glandes salivaires. — F. Foie. — P. Organe pancréatique.
E. Estomac. — C. Sac pylorique.

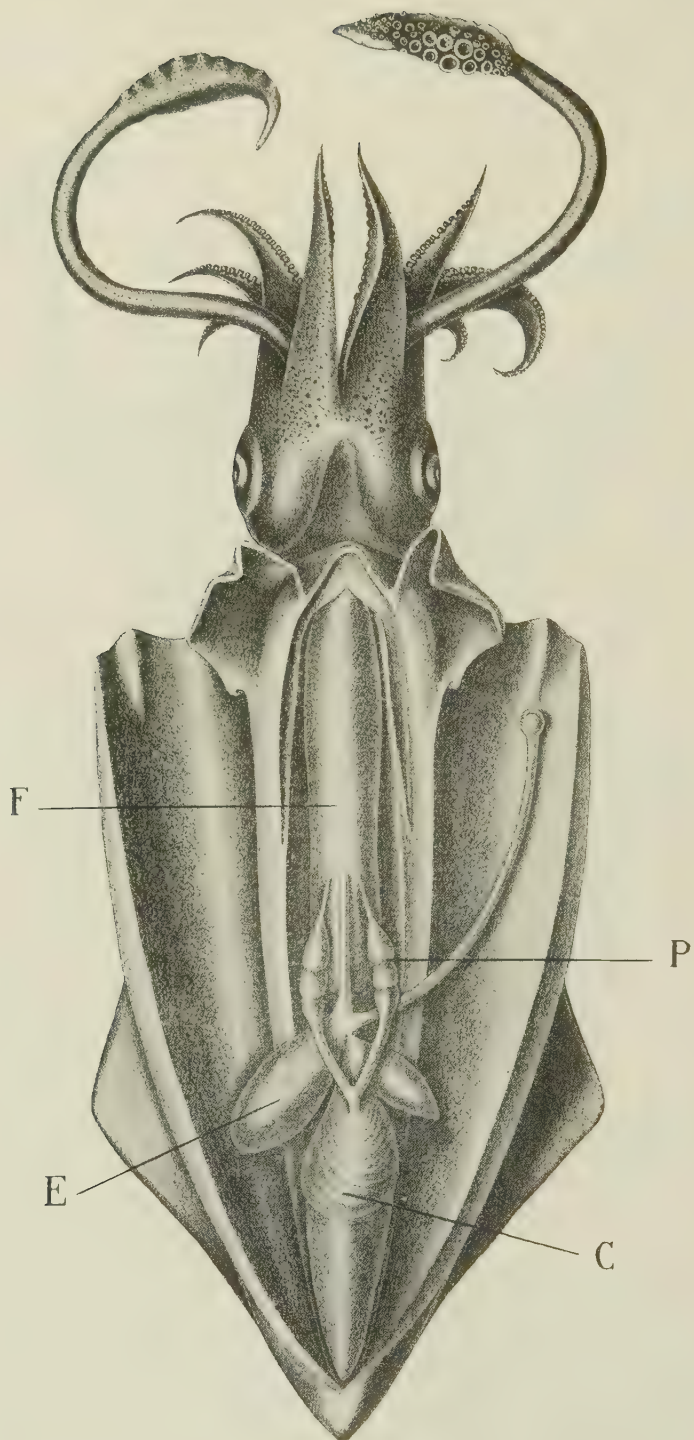


FIG. 4. — Appareil digestif du *Calmar*
 F. Foie. — P. Organe pancréatique. — E. Estomac. — C. Circum spiral

organe sécréteur. D'après cet auteur, l'épithélium hépatique (*fig. 5*) serait constitué par deux types cellulaires, probablement indépendants l'un de l'autre, et par des cellules indifférentes (*a*) servant au remplacement :

1° Les *cellules vacuolaires* (*g*) relativement peu nombreuses ; chez la Seiche, elles sont piriformes et renferment vers leur



FIG. 5. — Epithélium hépatique de *Sepia officinalis* (d'après CÉNON)

a. Cellules de remplacement. — *b.* Mitose superficielle. — *c.* Cellules à boules renfermant deux noyaux et des boules safrano-
philes de dimensions différentes. — *d* et *d'*. Cellules à boules
renfermant une sphère de cytoplasma dense qui entoure des
noyaux dégénérés. Dans la cellule *d'*, le plateau strié surmonte
une couche de bâtonnets cytoplasmiques. — *e.* Cellule renfer-
mant de grosses boules, de la graisse et, tout à fait en haut de
la cellule, une petite masse à granules jaunes. — *f.* Cellule
renfermant de petites boules, beaucoup de graisse et un grand
amas jaune de cristaux. — Dans les cellules *c*, *e*, *f*, la surface
libre de la cellule est limitée par la zone de bâtonnets cyto-
plasmiques. — *g.* Cellule vacuolaire. — *h.* Cellule basale à
grains réfringents (*Kalkzelle* de FRENZEL).

extrémité supérieure une énorme vacuole dont le liquide, jaunâtre ou rosé, tient en suspension des granules solides rouge vif ou bruns. Chez le Calmar, la vacuole est plus petite et dépourvue de concrétion colorée.

2° Les *cellules à boule* (*c, d, e, f*), très variables d'aspect, renferment, outre des globules de graisse, des boules safranophiles, tantôt petites et nombreuses, tantôt volumineuses ; souvent, au sommet, elles présentent un magma jaune renfermant des cristaux assez semblables à ceux de la tyrosine. Les vacuoles et les magmas à cristaux sont rejetés périodiquement au dehors. Les cellules vacuolaires survivraient à l'excrétion. L'absorption se ferait par le cæcum (graisse seulement) et le foie.

ACTION PROTÉOLYTIQUE

La bibliographie des phénomènes digestifs des Mollusques céphalopodes est abondante :

KRUKENBERG (1) constata l'inactivité des extraits de foie préparés par macération dans le chlorure de sodium en présence d'acide acétique dilué. Au contraire, l'extrait glyciné a des propriétés à la fois peptique et tryptique.

GRIFFITHS (*loc. cit.*), VIGELIUS (2), FRÉDÉRICQ (3) ont également signalé la présence du ferment protéolytique. Ce dernier auteur, se basant sur l'action de ce ferment à la fois en milieu alcalin et acide, suppose que cet enzyme n'est ni la pepsine ni la trypsine.

PAUL BERT (*loc. cit.*) croyait que la macération hépatique de la Seiche contenait de la pepsine, car la réaction chimique était constamment acide.

JOUSSET DE BELLESME (*loc. cit.*) montra que le suc hépatique d'*Octopus* digérait la fibrine et du muscle de *Carcinus mænas* en milieu acide.

COHNHEIM (4), ayant caractérisé la leucine et la tyrosine parmi les produits de transformation obtenus au cours de l'autolyse du foie d'*Octopus*, pense que le ferment protéolytique des Céphalopodes est une trypsine.

(1) KRUKENBERG, *Untersuchungen d. Physiol. Inst. Heidelberg*, Bd. 2, 1878, p. 2.

(2) VIGELIUS, Ueber das sog. Pankreas der Cephalopoden. *Zool. Anzeiger*, 1881, 413-431. — Vergleichend. anatomische Untersuchungen über das sogen. Pankreas der Cephalopoden. *Verh. Kön. Akad. Amsterdam*, XXII, 1881.

(3) FRÉDÉRICQ, *Arch. de Zool. exp.*, 7, 1878, p. 578-581.

(4) COHNHEIM, *Zeitschrift für physiologie Chemie*, t. 35, p. 396.

VICTOR HENRI et LALOU (*loc. cit.*) obtinrent du suc digestif pur en plaçant dans un des conduits hépato-pancréatiques une canule munie d'un petit réservoir où il se rassemblait. Ce suc digérait l'ovalbumine, la fibrine et la gélatine.

FALLOISE (*loc. cit.*) obtint des résultats semblables ; il observa, en outre, la résistance de l'ovalbumine cuite à l'action digestive et la disparition de la réaction du biuret des peptones, ce dernier phénomène démontre l'existence de l'érepsine. D'autre part, comme le foie contient encore de l'amylase et de la lipase, FALLOISE conclut à son rôle pancréatique : « Il s'agit donc d'un véritable suc pancréatique possédant les propriétés digestives caractéristiques du suc pancréatique des animaux supérieurs, mais, à l'inverse de celui-ci, agissant en milieu légèrement acide... Dans les extraits préparés avec l'organe entier, on constate la présence d'un ferment protéolytique qui dissout la fibrine et la gélatine, mais laisse intacte l'albumine coagulée, un ferment qui saccharifie l'amidon, un ferment lipolytique et une érepsine ; en somme, toutes les propriétés fermentatives que nous avons rencontrées dans le suc sécrété par l'organe lui-même. »

Recherches personnelles sur les ferments protéolytiques des Mollusques céphalopodes

Les travaux précédents ne permettent guère d'exprimer avec précision les propriétés de ces ferments.

Quelques constatations isolées signalant la présence de la tyrosine ou du tryptophane dans les produits digestifs laissent soupçonner l'action tryptique, mais l'absence d'observations sur l'hydrolyse de diverses matières protéiques dans des conditions variées d'expérience explique probablement l'imprécision des connaissances.

Pour combler cette lacune, nous avons opéré tantôt avec le suc du cæcum spiral du Calmar, tantôt avec celui du sac pylorique de la Seiche, ou encore avec des macérés de glande digestive de l'un et l'autre animal.

EXPÉRIENCES

Action sur l'ovalbumine coagulée. — On met au bain-marie à 40° un tube à essai contenant du suc de cæcum de Calmar ou de Seiche et un cube d'albumine ou un tube de METTE.

L'ovalbumine perd peu à peu sa blancheur. Les angles et les arêtes du cube deviennent transparents, mais l'albumine ne se dissout point.

Action sur la gélatine. — Un tube à essai contenant 0 cc. 1 de suc + 4 centimètres cubes de gélatine à 10 pour 100 est placé au bain-marie à 40°. Après peu de temps, la gélatine a perdu la propriété de gélifier.

Action sur le lait. — On met au bain-marie à 40° : 10 centimètres cubes de lait de vache + 0 cc. 1 de suc. Après 30 minutes, le lait est très appréciablement éclairci. L'eau bromée indique la présence du tryptophane. Le dosage de l'acidité après formol neutre montre l'existence d'acides aminés.

ÉTUDE DU MILIEU D'ACTION

Le phénomène digestif s'accomplit selon le processus tryptique. En milieu acide, cependant, l'action est encore manifeste, comme en témoignent les expériences suivantes :

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

On introduit dans un tube à essai 4 centimètres cubes de gélatine à 10 pour 100 exactement neutralisée + 0 cc. 1 de suc de Seiche ou de Calmar. On place le tout au bain-marie à 40°. On acidifie certains tubes par des doses variables de HCl N/2. On alcalinise les autres par CO³Na² N/2 à divers titres. Les volumes sont maintenus constants par addition d'eau distillée. Après une heure, on note ceux qui gélifient.

Détail de l'Expérience

Composition des tubes		Réaction en gr. HCl p. 1000	Après une heure
4 cc. gélatine neutre			
	+ 0 cc. 1 de suc + 0,9 HCl N/2 + 0,0 H ² O	3 gr. 28	gélifié
—	+ 0 cc. 1 de suc + 0,6 HCl N/2 + 0,3 H ² O	2 gr. 49	liquide
—	+ 0 cc. 1 de suc + 0,3 HCl N/2 + 0,6 H ² O	1 gr. 09	liquide
—	+ 0 cc. 1 de suc + 0,0 HCl N/2 + 0,9 H ² O	0 gr. 00	liquide
—	+ 0 cc. 1 de suc + 0,3 CO ³ Na ² N/2 + 0,6	1 gr. 57	sirupeux
—	+ 0 cc. 1 de suc + 0,6 CO ³ Na ² N/2 + 0,3	3 gr. 48	gélifié

Nous avons effectué d'autres expériences avec des macérés d'hépatopancréas. Les macérations étaient faites avec une partie de glande pour cinq parties d'eau distillée en présence de toluène. On laissait séjourner douze heures à la glacière et on expérimentait avec le liquide de filtration.

Les résultats obtenus furent constamment les mêmes qu'avec le suc du cæcum ou du sac pylorique.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

On opère de la façon suivante :

Tube a. — 4 cc. 5 suc digestif + 0 cc. 5 d'HCl N/2. Acidité pour 1.000, 1,82.

Tube b. — 4 cc. 5 suc digestif + 0 cc. 5 d'H²O³. Réaction neutre.

Tube c. — 4 cc. 5 suc digestif + 0 cc. 5 CO³Na² N/2. Alcalinité pour 1.000, 2,62.

On laisse les trois tubes au bain-marie à 40° pendant trois heures. On neutralise exactement ensuite, les volumes étant maintenus constants par addition d'H²O.

On fait alors dans trois autres tubes les mélanges suivants :

1° 1 cc. 5 de gélatine neutre à 10 pour 100 + 0 cc. 5 du tube *a*.

2° 1 cc. 5 de gélatine neutre à 10 pour 100 + 0 cc. 5 du tube *b*.

3° 1 cc. 5 de gélatine neutre à 10 pour 100 + 0 cc. 5 du tube *c*.

Résultats. — Au bain-marie à 40°

	Après 1/4 d'heure	Après 1/2 heure	Après 1 heure
	—	—	—
Tube 1.....	gélifié	gélifié	liquide
Tube 2.....	liquide	liquide	liquide
Tube 3.....	gélifié	gélifié	gélifié

Cette expérience prouve que le ferment a résisté en partie à l'action du milieu acide. Elle prouve, en outre, que des traces d'alcali ont suffi pour l'anéantir.

VALEUR DIGESTIVE COMPARÉE DU SUC DE *Loligo* ET DE LA PEPSINE, D'APRÈS LA NATURE DU MILIEU D'ACTION

Nous avons réalisé des expériences identiques à celles exposées dans le chapitre précédent au sujet des Crustacés décapodes.

EXPÉRIENCES

Préparation de la substance à digérer. — On prépare une solution obtenue en diluant au quart 50 centimètres cubes d'ovalbumine par de l'eau salée physiologique. On ajoute 4 centimètres cubes d'HCl normal. On agite. On filtre après 2 heures de séjour à la glacière.

On prend :

A) 120 centimètres cubes de ce filtrat auquel on ajoute 10 centimètres cubes d'eau. La solution ainsi obtenue ne contient pas d'acide libre sensible au diméthylamidoazobenzol. Acidité à la phthaléine, 4 pour 1.000.

B) 60 centimètres cubes de ce même filtrat auquel on ajoute 5 centimètres cubes d'HCl normal. Acidité au diméthylamidoazobenzol, 2 pour 1.000. Acidité faible, 4 pour 1.000.

Préparation de la solution de ferment. — 1° On dissout 0 gr. 500 de pepsine commerciale titre 100 dans 15 centimètres cubes d'eau.

2° On mélange 3 centimètres cubes de suc du cæcum de Calmar à 12 centimètres cubes de solution physiologique de chlorure de sodium.

Composition des liquides de digestion. — *Premier tube :* 20 centimètres cubes de la solution protéique A + 5 centimètres cubes de solution de pepsine. On dose immédiatement N^t, (N² + N³), N³ (témoin).

Deuxième tube : Il contient les mêmes mélanges. On laisse au bain-marie à 40° pendant 15 heures, puis on effectue les mêmes dosages.

Le troisième tube renferme 20 centimètres cubes de la solution protéique B + 5 centimètres cubes de la solution de pepsine. On laisse 15 heures à 40° et on effectue le dosage de (N² + N³), N³.

Un quatrième tube contient 20 centimètres cubes de la solution protéique B + 5 centimètres cubes de la solution de suc digestif de Calmar. On fait identiquement les mêmes dosages.

Le Tableau X montre que la pepsine a peu digéré en milieu faiblement acide (3,5 pour 100). Le suc de Calmar s'est montré plus actif (11,9 pour 100).

Au contraire, en milieu plus fortement acide, la digestion pepsique a été complète (100 pour 100), tandis que le suc de Calmar a fort peu agi (3,5 pour 100).

La marche de la protéolyse s'est effectuée, pour le Calmar, suivant un processus nettement tryptique. En effet, la valeur du rapport $\frac{N^2}{N^3}$ a été 2,7, tandis qu'il atteint pour la pepsine 19 et 24.

L'action légère du ferment en milieu acide est à signaler, mais

TABLEAU X

MILIEU D'ACTION	SUCS DIGESTIFS	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)					GAIN NET			RAPPORTS	
		DURÉE de la digestion	N ¹	N ¹	N ²	N ³	N ³ +N ³	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Acidité faible 1 gramme pour 1.000	Pepsine	Avant digestion	66,70		4,48	4,40	—	—	—	—	—
		Après dig. (45 h.)	66,70	53,82	6,38	4,30	2,00	1,90	0,10	3,3	19,0
	Suc de <i>Calmar</i>	Avant digestion	81,20	69,60	6,00	5,60	—	—	—	—	—
		Après digestion	81,20	61,40	12,00	7,80	8,20	6,00	2,20	41,9	2,7
Acidité faible 1 gramme pour 1.000 + Acidité forte 2 grammes pour 1.000	Pepsine	Avant digestion	66,70	37,74	4,48	4,48	—	—	—	—	—
		Après digestion	66,70	0,00	59,92	6,78	57,74	53,44	2,30	100,0	24,0
	Suc de <i>Calmar</i>	Avant digestion	81,20	69,60	6,00	5,60	—	—	—	—	—
		Après digestion	81,20	65,80	9,10	6,30	3,80	3,10	0,70	5,3	4,4

elle ne permet pas d'affirmer la présence de la pepsine dans le suc digestif du Calmar.

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Sepia* SUR DIVERSES MATIÈRES PROTÉIQUES

EXPÉRIENCES

1° *Action sur la caséine.* — On prend 21 cc. 5 de lait dégraissé et dilué de moitié. On ajoute 0 cc. 5 de suc digestif de *Sepia* recueilli dans le cæcum pylorique. 2 centimètres cubes sont prélevés, ils servent au dosage de N^1 . 5 centimètres cubes servent au dosage de ($N^2 + N^3$), 5 centimètres cubes au dosage de N^3 . Les 10 centimètres cubes qui restent sont laissés 15 heures à 40°. Après digestion, on dose dans 5 centimètres cubes de liquide ($N^2 + N^3$) et N^3 comme précédemment. Les résultats exprimés en azote sont rapportés à 20 centimètres cubes de liquide.

2° *Action sur divers sérums d'Invertébrés.* — On prend 25 centimètres cubes de chacun de ces sérums (*Maja*, *Cancer*, *Sepia*) dilués de moitié avec de la solution physiologique de chlorure de sodium et on les additionne de 0 cc. 5 de suc de *Sepia*. L'expérience est conduite comme précédemment.

Action sur la gélatine. — On fait une solution neutre de gélatine à 10 pour 100. 21 cc. 5 de cette solution sont additionnés de 0 cc. 5 de suc de *Sepia*. On dose N^1 et N^3 (voir tableau XI).

L'activité protéolytique globale a varié avec la matière mise en expérience.

La caséine a été bien digérée (71,3 pour 100).

Les sérums de *Maja* et de *Cancer* ont été peu transformés (13,6 pour 100 pour *Maja*, 9,7 pour 100 pour *Cancer*).

Celui de *Sepia* a résisté à l'action digestive (1).

Le rapport $\frac{N^2}{N^3}$ a varié entre 1,7 et 3,4.

Enfin il a été libéré 11 milligrammes d'azote aminé aux dépens de la solution de gélatine.

(1) Cette résistance à l'action protéolytique est due à l'action antitryptique de ces sérums, comme nous l'avons montré (voir l'indication bibliographique, p. 4). L'inactivité à peu près totale du suc digestif de *Sepia* sur son propre sérum est un fait intéressant à constater.

TABLEAU XI

SOLUTIONS PROTÉIQUES	DURÉE DES DIGESTIONS	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)				GAIN NET		RAPPORTS	
		N ¹	N ²	N ³	N ³	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Caséine	Avant digestion	48,00	44,26	0,94	2,80	—	—	—	—
	Après 15 heures	48,00	42,86	23,34	9,80	24,4	7,00	71,3	3,4
Sérum de <i>Maja</i>	Avant digestion	70,00	65,52	0,00	4,48	—	—	—	—
	Après 15 heures	70,00	56,62	5,60	7,78	5,60	3,30	43,6	1,7
Sérum de <i>Cancer</i>	Avant digestion	84,00	80,64	0,00	3,36	—	—	—	—
	Après 15 heures	84,00	72,84	5,56	5,60	5,56	2,24	9,7	2,4
Sérum de <i>Sepia</i>	Avant digestion	86,00	82,64	0,00	3,36	—	—	—	—
	Après 15 heures	86,00	81,52	4,12	3,36	4,12	0,00	4,3	—
Gélatine	Avant digestion	120,00	—	—	4,48	—	—	—	—
	Après 15 heures	120,00	—	—	15,48	—	41,00	—	—

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Loligo* SUR DIVERSES
MATIÈRES PROTÉIQUES

Des expériences réalisées avec le suc du cæcum de Calmar ont fourni des résultats comparables : 69 pour 100 de la caséine ont été digérés après 15 heures ; 16,7 pour 100 du sérum de *Cancer* ; 8,9 pour 100 d'ovalbumine ; 9 milligr. 5 de la solution de peptone WITTE ont été transformés en amino-acides (*Voir Tableau XII*).

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Sepia* SUR LA CASÉINE
APRÈS DES TEMPS VARIABLES

EXPÉRIENCES

On prend 80 centimètres cubes de lait dilué de moitié que l'on additionne de 2 centimètres cubes de suc digestif de *Sepia*. Des prises sont faites aussitôt pour doser N^1 , $(N^2 + N^3)$, N^3 ; 2 centimètres cubes pour N^1 , 3 centimètres cubes pour $(N^2 + N^3)$, 3 centimètres cubes pour N^3 . On porte à 40° le liquide de digestion. Après 30 minutes, 2 heures, 5 heures, 11 heures, 25 heures, on fait de nouvelles prises de 5 centimètres cubes qui serviront au dosage de $(N^2 + N^3)$, de N^3 (*Voir Tableau XIII*).

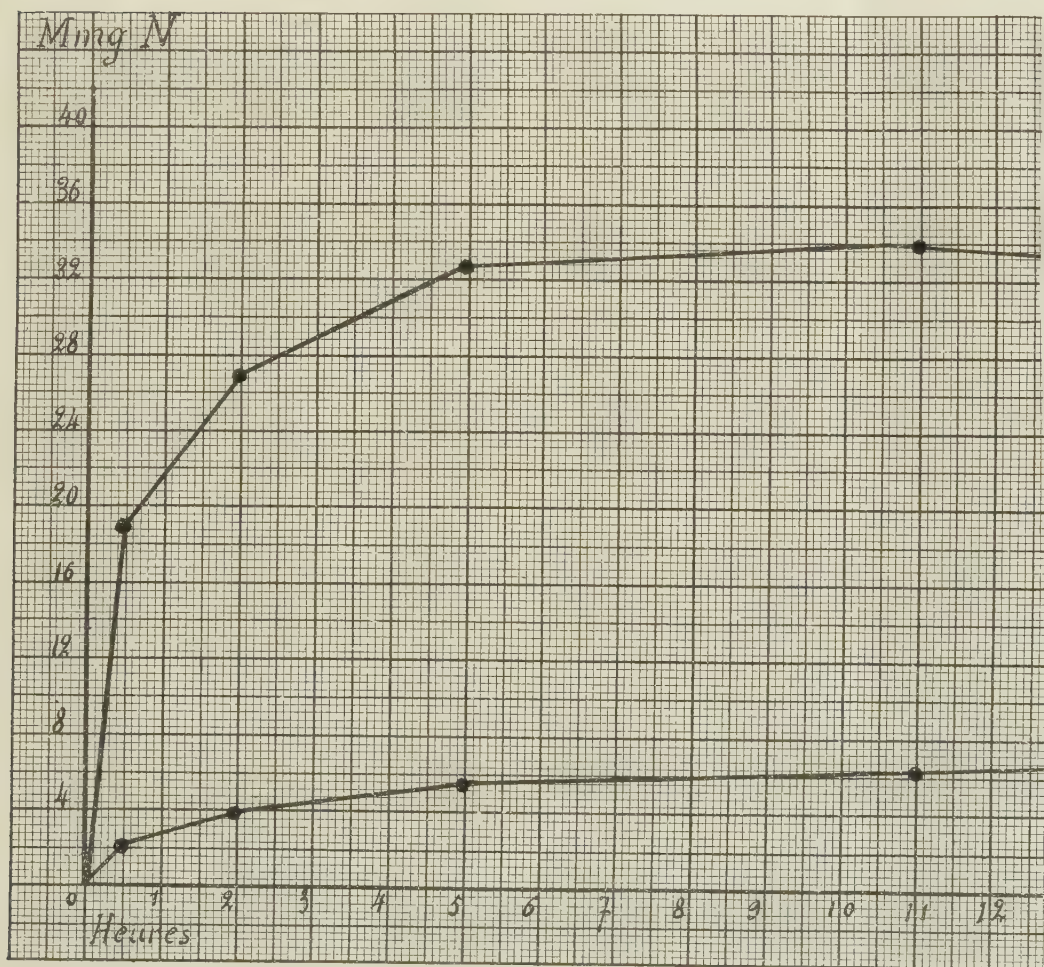
On voit qu'après 30 minutes 45,2 pour 100 de la caséine sont déjà digérés. Dans la suite, la digestion progresse encore, elle est maxima vers 11 heures (80 pour 100). Puis un phénomène de régression comparable à celui que nous avons signalé pour les Crustacés se manifeste, car après 25 heures on ne trouve plus que 71,9 pour 100 de la caséine de digérés. Nous avons déjà indiqué la constance et la difficulté de son interprétation.

ACTION DE LA TEMPÉRATURE SUR LA DIGESTION PROTÉOLYTIQUE
DU SUC DIGESTIF DE *Sepia*

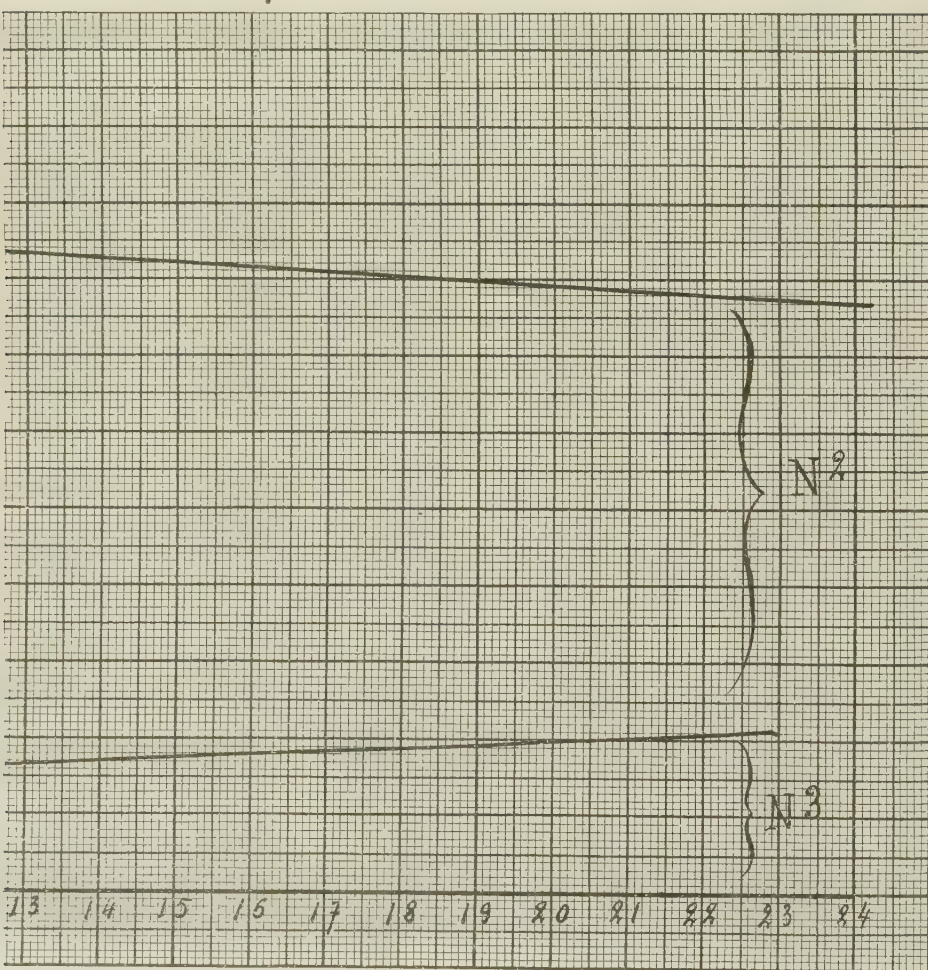
EXPÉRIENCES

Dans une série de tubes à essais contenant 24 cc. 5 de lait dilué de moitié, on ajoute 0 cc. 5 de suc digestif de *Sepia*. Dans l'un d'eux

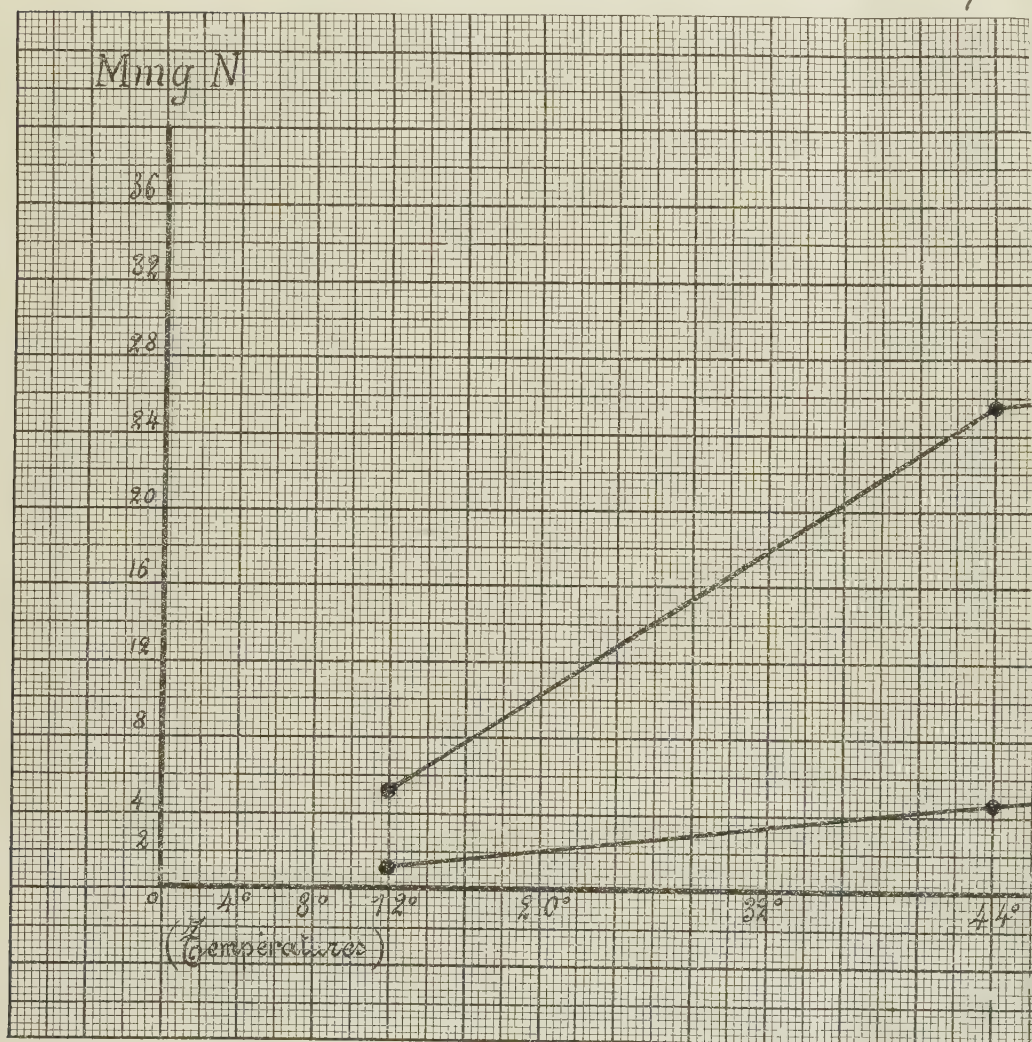
N°3. Graphique montrant l'action du Suc
après des temps variables, à l



digestif de Sepia sur la Caséine
à même température



N^o 4. — Graphique montrant l'action du Suc
à diverses tempéi



digestif de Sepia sur la Caséine
atures

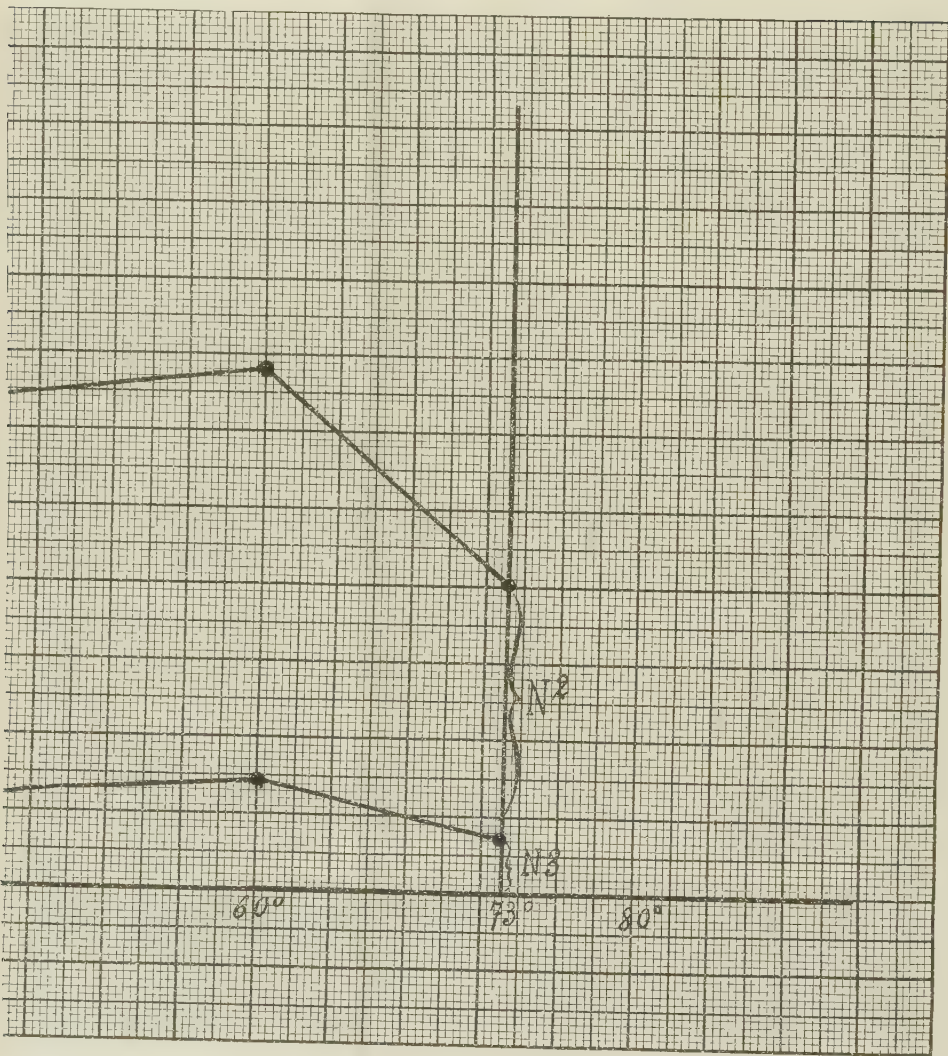


TABLEAU XII

SOLUTIONS PROTÉIQUES	DURÉE de la DIGESTION A 40°	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)					GAIN NET		RAPPORTS	
		N ¹	N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ²	N ³	$\frac{100 \cdot N^2 + N^3}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Caséine	Avant digestion	54,68	44,60	5,60	4,48	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	54,68	24,30	22,00	8,38	3,90	16,4	69,0	4,2	4,2
Ovalbumine	Avant digestion	95,12	78,88	8,12	8,12	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	95,12	71,92	12,76	10,44	2,32	4,64	8,9	2,0	2,0
Sérum de <i>Cancer pagurus</i>	Avant digestion	52,20	44,48	3,68	7,04	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	52,20	34,62	8,22	9,36	2,32	4,54	16,7	4,9	4,9
Peptones Witte	Avant digestion	110,20	7,00	95,00	8,20	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	110,20	0,00	92,50	17,70	9,50	0,00	9,50	—	—

TABLEAU XIII

TEMPS	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)				GAIN NET			RAPPORTS	
	N ⁰	N ¹	N ²	N ³	N ² +N ³	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Avant digestion . . .	47,60	42,00	2,80	2,80	—	—	—	—	—
Après 30 minutes . .	47,60	23,00	19,56	5,04	19,00	16,76	2,24	45,2	7,5
— 2 heures . . .	47,60	14,80	26,10	6,70	27,20	23,30	3,90	64,7	5,9
— 5 heures . . .	47,60	9,60	30,20	7,80	32,40	27,40	5,00	77,1	5,4
— 11 heures . . .	47,60	8,40	29,7	9,30	33,60	26,90	6,70	80,0	4,0
— 23 heures . . .	47,60	11,80	24,5	11,30	30,20	21,70	8,50	71,9	2,5

témoin) on fait des prises immédiates pour doser N^1 , $(N^2 + N^3)$, N^3 . On les place au bain-marie à des températures variables : 12°, 44°, 60°, 73° pendant 15 minutes (1).

On dose dans chacun de ces tubes $(N^2 + N^3)$, N^3 (voir *Tableau XIV*).

Le maximum d'action du ferment s'est exercé à 60°, car 62,3 pour 100 de la caséine ont été digérés. A 44°, la digestion a également été importante (59,7 pour 100). A 73°, elle est encore très notable (46,7 pour 100).

ROLE DU CÆCUM DES CÉPHALOPODES

Le rôle du cæcum des Céphalopodes (*fig. 3 et 4, C*), différemment dénommé selon les espèces (sac pylorique de la Seiche, cæcum spiral du Calmar), a depuis longtemps suscité la curiosité des biologistes. Il communique d'un côté avec la poche gastrique et il reçoit, par un autre côté, le suc sécrété par l'hépatopancréas.

DUVERNOY (2) et CUVIER (3) pensaient que les aliments se rendaient de l'estomac dans le cæcum pour y être digérés.

PAUL BERT (4) soutint, au contraire, que chez la Seiche les substances alimentaires n'y pénétraient point.

C'est également l'opinion de BOURQUELOT (5), qui n'a jamais rencontré d'aliments dans le cæcum d'un Céphalopode frais. Ils resteraient dans l'estomac pendant la digestion. Pour s'en assurer, dit cet auteur, « il suffit de fendre en long, dans son milieu, la paroi postérieure du manteau d'un Poulpe en vie et en digestion, de manière à dégager l'estomac et les parties du tube digestif qui en sont voisines. Si l'estomac est plein, les contractions, qui sont fréquentes et très puissantes, refoulent le chyme vers le jabot, jamais il n'en entre dans le cæcum. Si, empêchant par la pression le mouvement du chyme vers le jabot, on comprime l'estomac avec précaution, les aliments passent dans l'intestin. »

(1) Pour des expériences d'aussi courte durée, il faut placer préalablement chaque tube à la température voulue avant d'y introduire l'agent digestif.

(2) DUVERNOY, *Anatomie comparée* de CUVIER, édition belge, t. II, p. 441 (d'après BOURQUELOT).

(3) CUVIER, *Mémoires sur les Céphalopodes*, p. 29.

(4) PAUL BERT, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LXV, 1867, p. 300.

(5) BOURQUELOT, *Archives de Zoologie expérimentale*, t. III, 1885, p. 67.

TABEAU XIV

TEMPÉRATURE	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)				GAIN NET			RAPPORTS	
	N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ² + N ⁴	N ²	N ³	$\frac{100(N^2 + N^4)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Avant digestion....	47,60	43,12	2,24	2,24	—	—	—	—	—
12°	47,60	38,64	5,04	3,92	4,48	2,80	4,68	40,4	4,7
44°	47,60	47,42	23,46	6,72	23,70	21,22	4,48	39,7	4,7
60°	47,60	16,24	23,32	7,84	26,88	21,28	3,60	62,3	3,8
73°	47,60	23,00	18,44	6,16	20,12	16,20	3,92	46,7	4,1

FALLOISE (1) démontre par l'expérience suivante qu'une partie du chyme gastrique pénètre dans le cæcum : « On injecte dans l'œsophage d'*Eledone* vivant, au moyen d'une sonde fine et souple introduite par la bouche, un liquide coloré quelconque, du rouge Congo par exemple. On ouvre l'animal après un certain temps, on voit par transparence le liquide coloré qui distend le jabot et l'estomac. Très souvent une partie du liquide coloré se trouve dans le cæcum. Si on excite les nerfs viscéraux on détermine des contractions énergiques de tout l'appareil digestif; on voit le contenu de l'estomac refluer vers le gésier, le contenu du cæcum pénétrer dans l'estomac, puis le courant se renverse, le contenu de l'estomac file en majeure partie dans l'intestin, une petite partie pénètre dans le cæcum. Si on opère sur des animaux morts et que l'on injecte une solution colorée dans l'œsophage, elle passe dans le jabot, l'estomac et l'intestin, sans pénétrer dans le cæcum comme l'avait constaté BOURQUELOT, mais si l'on provoque des contractions de l'appareil digestif par excitation des nerfs viscéraux, une partie du contenu stomacal pénètre dans le cæcum.

» Comment se comporte à ce point de vue la bouillie alimentaire? Si l'on examine l'appareil digestif d'*Eledone* alimentés par des crabes dont les tissus ont été colorés en rouge par du carmin, on constate que, dans la plupart des cas, le cæcum contient une quantité plus ou moins grande de chyme rouge.

» Ces expériences démontrent que le cæcum n'est pas uniquement un réservoir pour le suc sécrété par l'hépatopancréas mais que les aliments peuvent y pénétrer. »

Nos observations concordent avec celles de FALLOISE quant à la possibilité de pénétration des substances alimentaires. Toutefois nous sommes convaincu que les produits solubilisés par les actes digestifs pénètrent seuls dans le cæcum, à l'exclusion des substances solides.

Il s'agit maintenant de savoir si le chyme arrivant de l'estomac dans le cæcum parvient jusqu'au foie en passant par les canaux hépatopancréatiques. S'il en est ainsi, le cæcum apparaîtra comme un organe préposé à deux fonctions : 1° comme

(1) FALLOISE, *Archives internationales de Physiologie*, vol. III, fascicule III, mars 1906, p. 302-304.

un réservoir de suc digestif; 2° comme un réservoir des produits solubles de la digestion. La question se poserait alors de savoir si la transformation de ces produits solubles ne se continuerait pas dans cet organe, qui ensuite les absorberait directement à travers sa paroi.

ENRIQUES (1) et CUENOT (*loc. cit.*) admettent qu'il en est ainsi mais seulement pour les graisses.

Recherches personnelles

D'après ce qui vient d'être dit, le cæcum doit être envisagé d'abord comme un réservoir de suc digestif, puis comme un organe où s'accumulent les substances alimentaires fluidifiées, avant de passer dans le foie.

La plupart de nos expériences sur le ferment protéolytique des Céphalopodes, exécutées avec du suc recueilli dans le cæcum, prouvent la réalité de la première fonction. Il restait à prouver l'existence de la deuxième.

Pour cela, nous avons : 1° déterminé les rapports au poids total de l'animal, du foie d'une part et du cæcum d'autre part; 2° recherché, puis dosé les corps aminés comparativement dans ces deux organes.

Les indications consignées dans le tableau montrent que le rapport du poids du foie de Calmar au poids total est de 2,11 pour 100 (moyenne effectuée sur 7 animaux). Le rapport analogue du cæcum est de 5 pour 100.

Pour la Seiche, les résultats sont inverses. Le rapport du poids du foie au poids total est de 4,4 (moyenne effectuée sur 4 animaux). Il est environ le double de celui du Calmar. Le rapport du poids du cæcum au poids total est très faible.

Ces faits s'expliquent facilement, car le cæcum de la Seiche contient habituellement peu de suc, tandis que celui du Calmar en est constamment rempli. L'absorption des produits digestifs, rapide chez la Seiche, est plus lente chez le Calmar. Ces faits se dégagent des constatations indiquées dans le Tableau XV et aussi des expériences suivantes.

(1) ENRIQUES, *Mittheilungen Zool. Stat. Neapel*, XV, p. 284, 1902.

TABLEAU XV

ESPÈCES ANIMALES	POIDS EN GRAMMES			RAPPORT p. 100 du POIDS TOTAL	
	POIDS TOTAL de l'animal	du FOIE	du SUC CŒCUM	du FOIE	du SUC CŒCUM
<i>Loligo</i>					
N° 1	414	2,67	41,18	2,3	9,8
N° 2	417	2,30	4,62	2,0	4,3
N° 3	343	7,26	24,65	2,3	7,8
N° 4	405	2,25	4,23	2,1	4,0
N° 5	272	5,63	20,30	2,0	7,4
N° 6	478	3,47	6,65	1,7	3,7
N° 7	90	4,90	0,92	2,1	4,0
(à jeun huit jours)	4191,0	25,48	69,55	2,11	5,0
<i>Sépia</i>					
N° 1	163	7,8	1,2	4,7	0,73
N° 2	65	3,0	0,0	4,6	—
N° 3	4070	43	0,8	4,0	0,07
N° 4	850	37	3,2	4,3	0,3
	2148	89,8	5,2	4,4	—

DOSAGES COMPARÉS DES PRODUITS DIGESTIFS DANS LE FOIE
ET DANS LE CÆCUM

Nous avons employé notre technique habituelle pour doser les protéoses et les acides aminés.

Des expériences comparatives effectuées avec le tissu hépatique et avec le suc du cæcum nous ont donné les résultats contenus dans le Tableau XVI.

TABLEAU XVI

	LOLIGO		SEPIA	
	FOIE Milligr. N pour 100 gr. tissu	SUC CÆCUM Milligr. N pour 100 cc.	FOIE Milligr. N pour 100 gr. tissu	SUC CÆCUM Milligr. N pour 100 cc.
N° total.....	3396	4330	3448	1232
N° albumine.....	2146	1711	2942	1184
N° peptones-albumoses..	810	1739		
N° acides aminés.....	640	900	506	48

Si on rapproche les faits contenus dans les Tableaux XV et XVI, on voit qu'ils fournissent des indications identiques.

Le cæcum de Loligo et de Sepia renferme à la fois du suc digestif et des corps aminés.

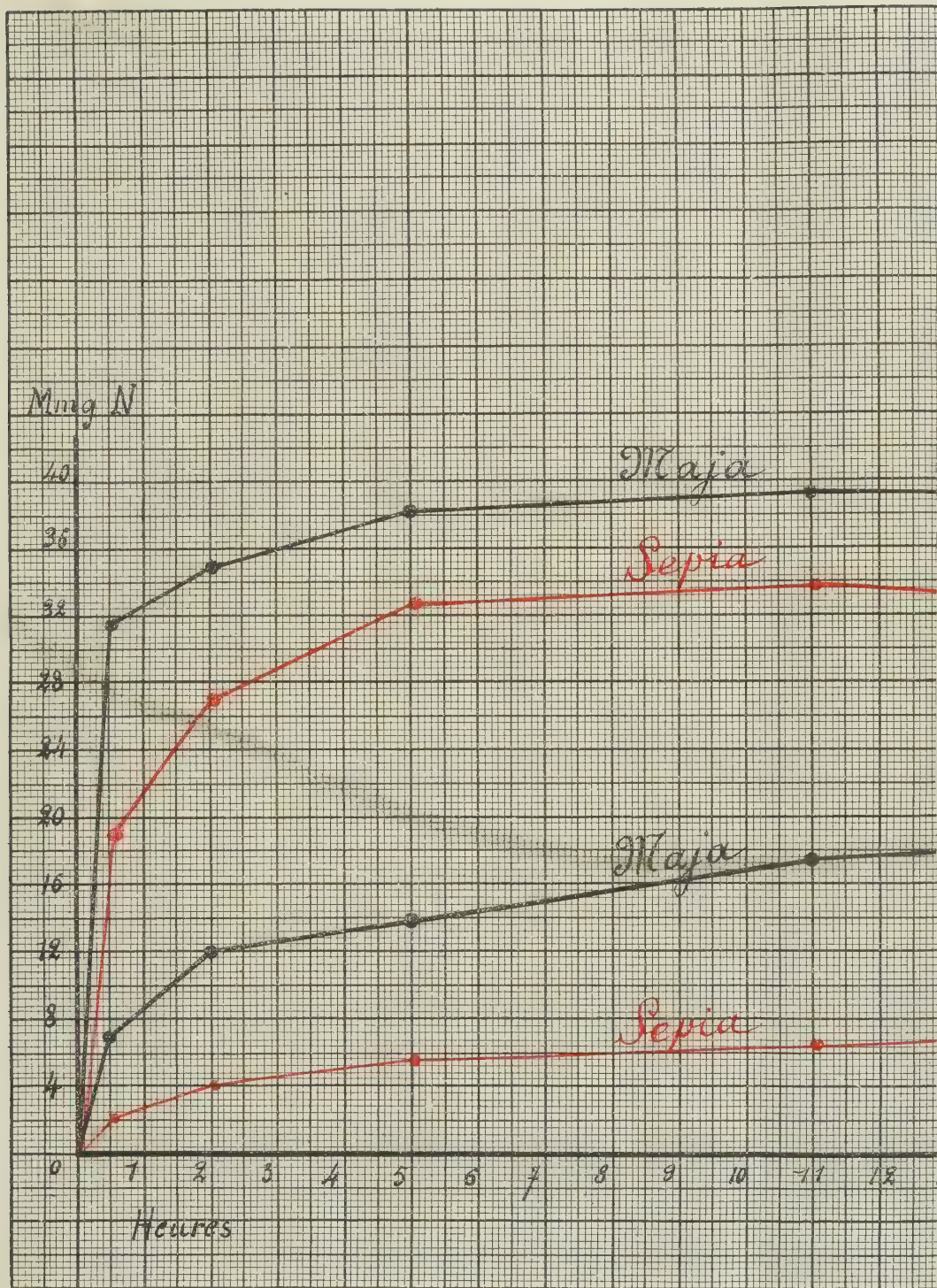
On peut interpréter ces résultats en admettant que la digestion protéolytique, réalisée en partie dans la poche gastrique, se continue dans le cæcum, mais seulement sur les substances alimentaires préalablement liquéfiées.

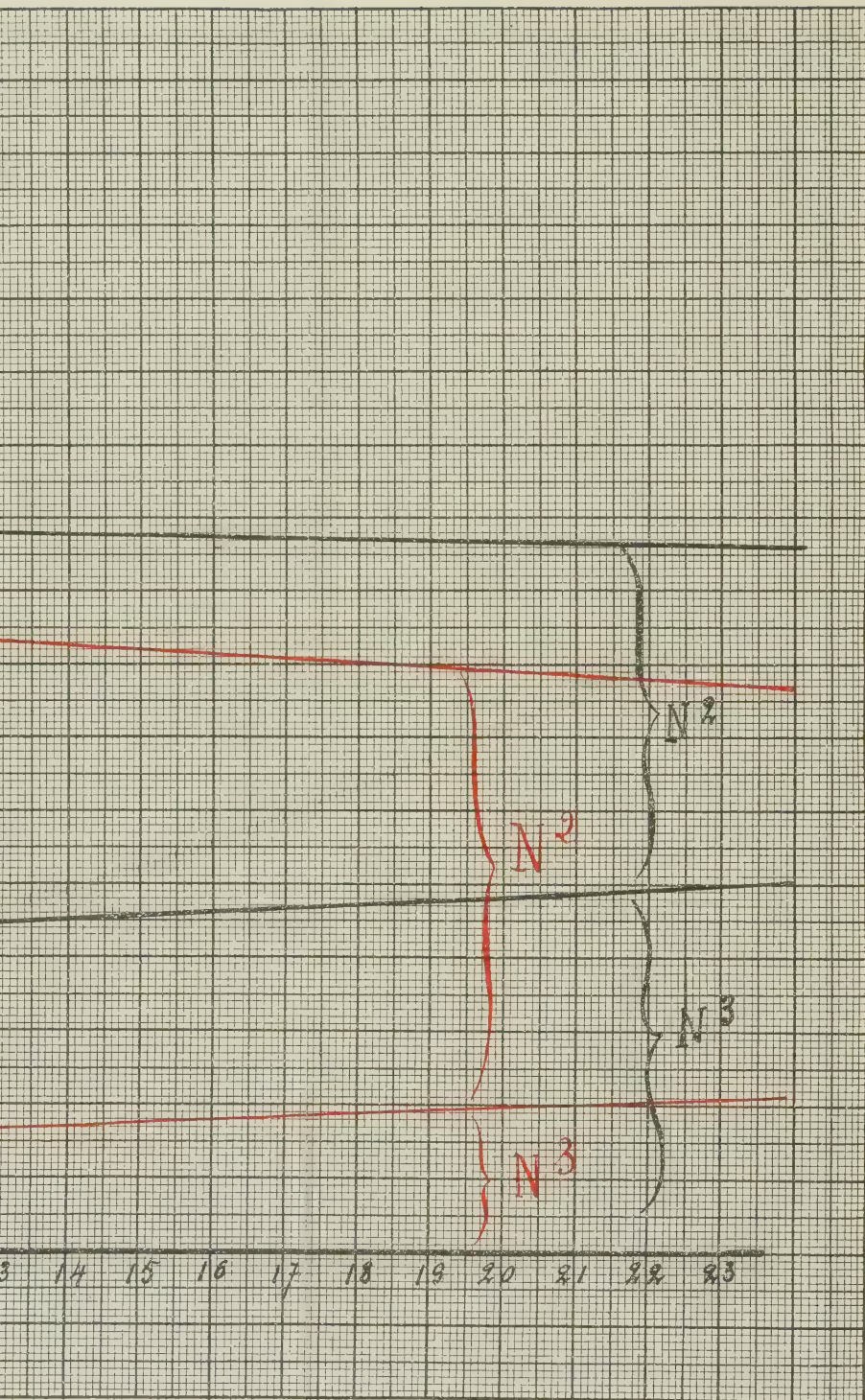
Les produits digestifs se rendent ensuite dans le foie, comme en témoigne leur présence dans cet organe.

En résumé, le ferment protéolytique de *Loligo* et de *Sepia* transforme facilement la caséine. Il ne dissout pas l'ovalbumine coagulée.

Les matières protéiques des sérums de *Maja* et de *Cancer* sont transformées d'une façon appréciable. Le suc digestif d'un

N^o 5





animal est impuissant à digérer les albumines de son propre sérum.

Les solutions d'ovalbumines sont très peu attaquées.

L'action sur la gélatine et sur les peptones de WITTE libère facilement des corps aminés.

La température exerce une action progressivement favorisante jusque vers l'optimum de 60°.

La marche du phénomène, après des temps variables, montre la mise en liberté rapide de protéoses, puis la formation progressive de corps aminés.

Le ferment protéolytique de Loligo et de Sepia digère donc les substances protéiques à la façon de la trypsine.

Leur cæcum contient à la fois du suc digestif et des acides aminés.

(Le graphique n° 5 ci-contre représente l'action digestive comparée du suc digestif de *Maja* et de *Sepia* sur la caséine dans des conditions identiques.)

III

MOLLUSQUES GASTÉROPODES

Anatomie de l'appareil digestif. — Nous avons utilisé pour nos recherches trois espèces herbivores, l'Escargot de Bourgogne et deux espèces d'Aplysie.

L'appareil digestif de l'Escargot est bien connu. Après un bulbe buccal muni d'un manchon et d'une radula commence

l'œsophage sur lequel reposent les glandes salivaires; il pénètre dans un foie volumineux et y forme des circonvolutions. Les canaux des lobes droit et gauche du foie débouchent dans une dilatation contournée, dite estomac ou cæcum, qui reçoit le liquide digestif en abondance.

Le tube digestif de l'Aplysie (*fig. 6*) offre beaucoup d'analogie avec le précédent. Avant d'entrer dans le foie, il forme un bulbe buccal (*B*), un jabot (*J*) très extensible où s'accumulent les herbes mangées par le Mollusque, puis un gésier (*G*) tapissé de dents chitineuses en nombre variable avec les espèces. Grâce à un dispositif spécial, les aliments ne passent que graduellement dans l'estomac, prolongement du gésier; ses

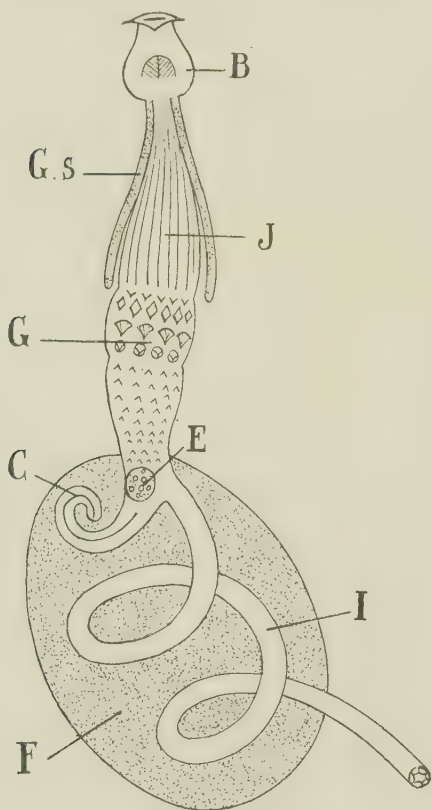


FIG. 6. — Appareil digestif d'*Aplysia*
(d'après J. GUIART).

B. Bulbe buccal. — *G.s.* Glandes salivaires. —
J. Jabot. — *G.* Gésier. — *E.* Orifices hépati-
ques. — *C.* Cæcum hépatique. — *F.* Foie. —
I. Intestin.

parois sont minces et peu glandulaires; les canaux hépatiques

y débouchent par plusieurs orifices (*E*) ; latéralement est un long cæcum (*C*) où séjournent un peu les aliments conséquence du régime herbivore de l'animal. L'intestin (*I*) forme plusieurs circonvolutions dans la masse du foie. Chez tous les Gastéropodes (les Eolidiens excepté), cet organe est revêtu d'un endothélium cylindrique non glandulaire auquel les auteurs n'accordent aucun rôle dans la digestion. Les cellules digestives, sécrétrices et absorbantes sont les cellules hépatiques.

ACTION PROTÉOLYTIQUE CHEZ *Helix*

Il est généralement admis que la sécrétion du suc digestif est d'origine hépatique. On a beaucoup étudié la propriété protéolytique chez *Helix*, mais les résultats obtenus sont contradictoires.

KRUENBERG (1) a trouvé dans l'extrait glycérimé du foie une « Helicopepsine », différente de la pepsine des Vertébrés par son inactivité sur la fibrine cuite, tandis qu'elle peptoniserait facilement la fibrine crue ; ce ferment, d'après YUNG (2), perd son activité en milieu alcalin.

MAX LEVY (3) a trouvé de la pepsine mais pas de trypsine.

Par contre, BIEDERMANN et MORITZ (4), en opérant dans des conditions physiologiques variées, ont toujours constaté l'inactivité digestive de l'extrait aqueux ou de l'extrait glycérimé du foie.

Cependant, ENRIQUES (5), qui a constaté l'absorption des granules libres de chlorophylle par le foie, pensait que cet organe sécrète probablement un enzyme protéolytique, mais seulement

(1) KRUENBERG, Der Verdauungsvorgang bei einigen Cephalopoden und Pulmonaten. *Untersuchungen d. Physiol. Inst. Heidelberg*, t. 2, 1878, p. 2.

(2) YUNG, Contribution à l'histoire physiologique de l'Escargot, 1887. *Mémoires couronnés et Mémoires des savants étrangers, publiés par l'Acad. roy. de Bruxelles* t. 49, 1888, p. 1, 116.

(3) MAX LEVY, Zoochemische Untersuchungen der Mitteldarmdrüse (Leber) von *Helix pomatia*. *Zeitschrift Biol.*, t. 27, 1890, p. 398-414.

(4) BIEDERMANN et MORITZ, Beiträge zur vergleichenden. Physiologie der Verdauung, t. III, 1899. Ueber die Funktion der sog. Leber der Mollusken. *Arch. ges. Physiol.*, t. 75, p. 1-86.

(5) ENRIQUES, Il fegato dei Molluschi e le sue funzioni. *Mitt. Zool. Stat. Neapel*, t. 15, 1901, p. 374.

lorsque les aliments pénètrent dans l'estomac et au moment où la digestion des hydrates de carbone commence.

En opérant soit avec du suc digestif provenant d'animaux à jeun ou en digestion, soit avec un mélange de ce liquide avec de l'extrait d'intestin, JORDAN (1) vérifia et précisa les conclusions de BIEDERMANN et MORITZ. L'action fut négative dans tous les cas ; cet auteur ne réussit pas à découvrir une kinase active.

Enfin, STÜBEL (2) constata la même inactivité. Néanmoins, une partie de l'albumine fournie étant utilisée, il suppose l'existence d'un enzyme protéolytique.

Recherches personnelles chez *Helix*

Nous avons utilisé pour nos études soit l'extrait de foie, soit le suc digestif recueilli sur des animaux à jeun ou en digestion.

Ce dernier liquide, de couleur groseille, est riche en matières protéiques. Il est neutre au tournesol et à la phtaléine et précipite par les acides (AzO^3H ou HCl). Additionné de soude, il se prend en masse. La chaleur le coagule facilement.

ÉTUDE DE L'ACTION PROTÉOLYTIQUE

EXPÉRIENCES

Action sur l'albumine coagulée en tube de METTE. — L'albumine n'a pas été dissoute après trente heures à 40° . Il ne semble pas y avoir de proferment pouvant être activé, car le suc est encore inactif quand il est acidifié, alcalinisé ou calcifié. La neutralité protéolytique se maintient après mélange avec de l'extrait hépatique ou avec de l'extrait intestinal.

Action sur le lait. — On fait dans des tubes à essais les mélanges suivants :

Tube *a*. — 0 cc. 1 de suc digestif + 4 cc. 5 de lait normal + 0 cc. 5 H^2O .

Tube *b*. — 0 cc. 1 de suc digestif + 4 cc. 5 de lait normal + 0 cc. 5 HCl N/3 .

(1) JORDAN, Der gegenwärtige Stand der Frage nach der Eiweissverdauung bei niederen Tieren. *Biologisches Centralblatt*, 1907, v. 27, p. 380.

(2) STÜBEL, Zur Frage der Eiweissverdauung der Landpulmonaten (*Physiol. Instit. Jena*). *Zentralblatt f. Physiol.*, t. 22, p. 525-528.

Tube *c*. — 0 cc. 1 de suc digestif + 4 cc. 5 de lait normal + 0 cc. 5 $\text{CO}^3\text{Na}^2 \text{ N/5}$.

Tube *d*. — 0 cc. 1 de suc digestif + 4 cc. 5 de lait calcifié à 5 grammes pour 1.000 + 0 cc. 5 H^2O .

Après vingt-quatre heures, le lait n'a subi aucune modification. La caséine n'a été ni coagulée ni digérée. La réaction de l'eau bromée est négative.

L'extrait aqueux de foie fournit les mêmes résultats.

Ces faits contredisent les conclusions de KRUKENBERG, de YUNG et de MAX LÉVY, et confirment celles de BIEDERMANN et MORITZ, de JORDAN et de STÜBEL.

ACTION PROTÉOLYTIQUE CHEZ *Aplysia*

BOTAZZI (1) admet la présence dans le liquide gastrique d'*Aplysia limacina* d'au moins deux enzymes actifs en milieu acide : l'un amylolytique, l'autre protéolytique. « Le liquide gastrique doit contenir au moins deux enzymes : un amylolytique et l'autre protéolytique, et tous deux doivent être actifs dans un milieu acide. Nous nous sommes assuré de la grande activité du premier par des expérimentations faites sur l'amidon cuit de riz, lequel, en peu de temps, est transformé en sucre par le liquide filtré du contenu gastrique, malgré sa forte acidité.

» L'enzyme protéolytique doit nécessairement dissoudre les corps cellulaires et les chloroplastes, autrement on ne pourrait expliquer la mise en liberté de la chlorophylle. Celle-ci, qui est insoluble dans l'eau du contenu gastrique, à mesure qu'elle est mise en liberté, précipite dans le contenu susdit sous forme de granules irréguliers, très fins, qui y restent suspendus. Ces enzymes sont un produit de l'activité sécrétante de l'hépatopancréas, par les canalicules duquel ils s'épanchent, par la chambre hépatique, dans le tube digestif. »¹

BOTAZZI ne cite toutefois aucune expérience démontrant la réalité de son opinion.

(1) BOTAZZI, Contributions à la physiologie comparée de la digestion. La fonction digestive de l'*Aplysia limacina*. *Archives italiennes de Biologie*, 1901, vol. 35, p. 322.

Recherches personnelles chez *Aplysia*

Nous avons expérimenté soit avec le suc digestif, soit avec l'extrait aqueux du foie d'*Aplysia punctata* ou d'*Aplysia fasciata*.

Action sur le lait. — 21 centimètres cubes de lait dilué de moitié sont additionnés de 0 cc. 5 de suc d'*Aplysia*. On prélève aussitôt 2 centimètres cubes pour doser l'azote total N^1 . 5 centimètres cubes servent au dosage de l'azote non précipitable par l'acide trichloracétique ($N^2 + N^3$), 5 centimètres cubes pour N^3 . Les 10 centimètres cubes qui restent sont laissés quinze heures à 40°. On dose alors les mêmes éléments dans 5 centimètres cubes de liquide.

Action sur le sérum de Maja. — Avec le même dispositif expérimental on remplace le lait par du sérum de *Maja* dilué de moitié par du sérum physiologique.

Action sur la gélatine. — 21 centimètres cubes de gélatine à 10 pour 100 sont mis en digestion avec 0 cc. 5 de suc digestif d'*Aplysia*. On procède au dosage de N^1 et de N^3 .

Le Tableau XVII montre l'inactivité sur ces diverses matières protéiques. La caséine, pourtant si facilement transformée par les ferments protéolytiques, est restée intacte, car le très faible résultat trouvé est négligeable. Le lait a d'ailleurs conservé tous ses caractères physiques au cours de l'expérience.

Nos expériences nous permettent de conclure à l'inactivité protéolytique des sucs digestifs d'*Helix pomatia*, d'*Aplysia punctata* et d'*Aplysia fasciata*.

L'hypothèse d'une kinase activante semble peu probable, car des expériences de JORDAN ont constamment donné des résultats négatifs. On sait d'ailleurs que les ferments des Invertébrés sont directement actifs et qu'ils ont jusqu'ici résisté aux diverses tentatives d'activation.

Le mécanisme d'absorption des matières protéiques chez ces êtres reste donc mystérieux. L'existence d'un processus digestif intra-cellulaire ne nous paraît pas invraisemblable, bien que son mécanisme nous échappe.

TABLEAU XVII

SOLUTIONS PROTÉIQUES	DURÉE. DES DIGESTIONS	RÉPARTITION DE N (in 20 cc)				GAIN NET			RAPPORTS	
		N ¹	N ²	N ³	N ³	N ² + N ³	N ²	N ³	$\frac{100(N^2 + N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Caséine	Avant digestion	48,00	3,36	2,24	2,24	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	48,00	4,48	2,24	2,24	4,42	4,42	0,00	2,6	—
Sérum de <i>Maja</i>	Avant digestion	72,00	66,40	5,60	5,60	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	72,00	66,40	5,60	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	—
	+ 24 heures	72,00	66,40	5,60	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	—
Gélatine	Avant digestion	120,00	—	5,60	5,60	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	120,00	—	5,60	5,60	—	—	0,00	0,00	—
	+ 24 heures	120,00	—	5,60	5,60	—	—	0,00	0,00	—

IV

ANNÉLIDES CHÉTOPODES (*Aphrodite aculeata*, fig. 9 et 10)

Appareil digestif. — L'appareil digestif (fig. 7) se compose

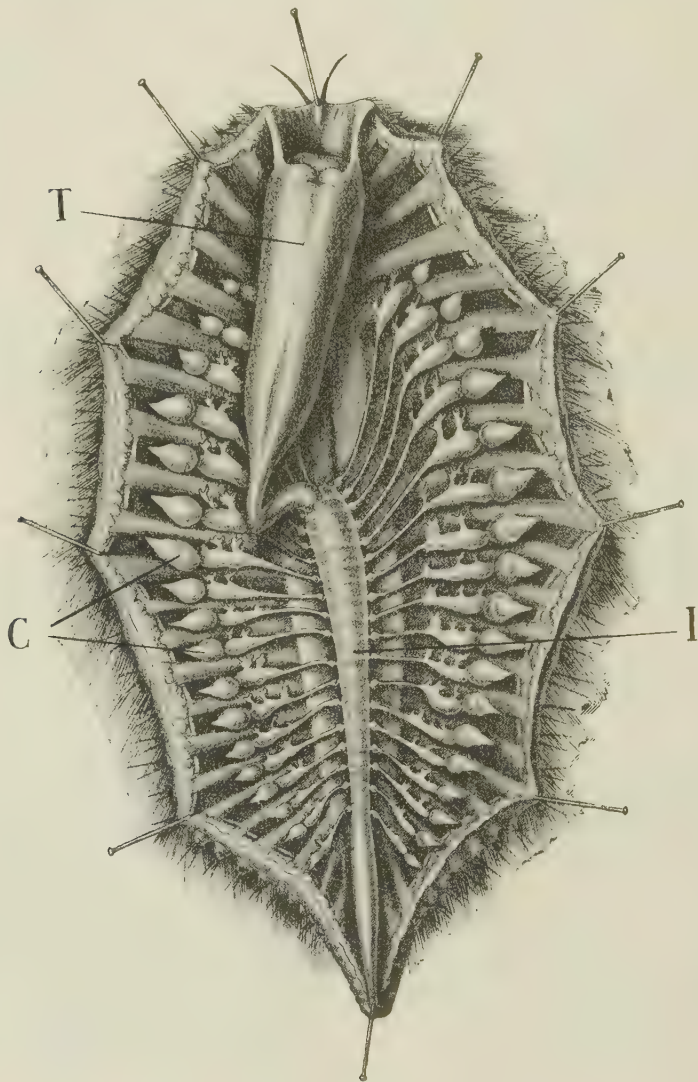


FIG. 7. — Appareil digestif d'*Aphrodite aculeata* L.
T. Trompe. — I. Intestin. — C. Cæcums,

de deux parties : une « trompe » (*I*), à parois épaisses et musculueuses, et un intestin rectiligne présentant une série de constriction annulaires correspondant aux divers segments de l'animal. Mais les parties annexes de l'intestin le rendent fort complexe. En effet, au niveau de chacune de ces constriction, et de chaque côté, débouche un long cæcum où les aliments ne pénètrent point et dont l'orifice, bordé de cils gigantesques, est disposé de telle façon que l'émission de son contenu est nécessairement discontinue. La figure 7 montre en grandeur naturelle la disposition de ces cæcums ; l'un d'eux, isolé et un peu grossi, est dessiné sur la figure 8. On y distingue : 1° Un long col (*C*) ; 2° un sac dorsal (*D*) très ramifié ; 3° un sac ventral de forme ovoïde, distendu par un liquide brunâtre. Le sac dorsal et le sac ventral sont réunis par un deuxième col (*C*).

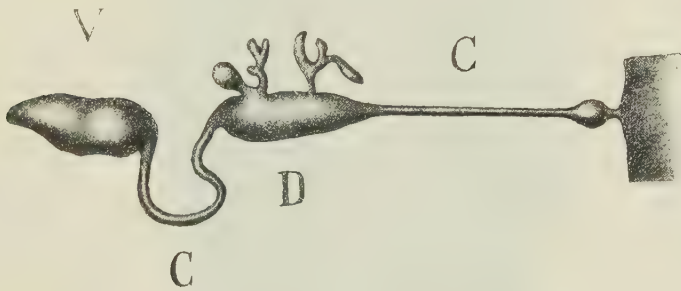


FIG. 8. — *Aphrodite aculeata* L. — Cæcum
C. Col. — *D.* Sac dorsal. — *V.* Sac ventral.

Le revêtement épithélial de l'intestin est formé de cellules cylindriques plus ou moins allongées, souvent bourrées vers leur extrémité libre de spérules d'aspect huileux. La structure du col rappelle d'abord celle de l'intestin, puis son caractère glandulaire s'accroît progressivement vers le sac dorsal ; celui-ci, d'après HASWELL (1), serait la seule partie sécrétante, tandis que DARBOUT attribue à toute l'étendue des cæcums le rôle glandulaire. Trois sortes de cellules se rencontrent surtout dans leur épithélium.

(1) Cité par G. DARBOUT,

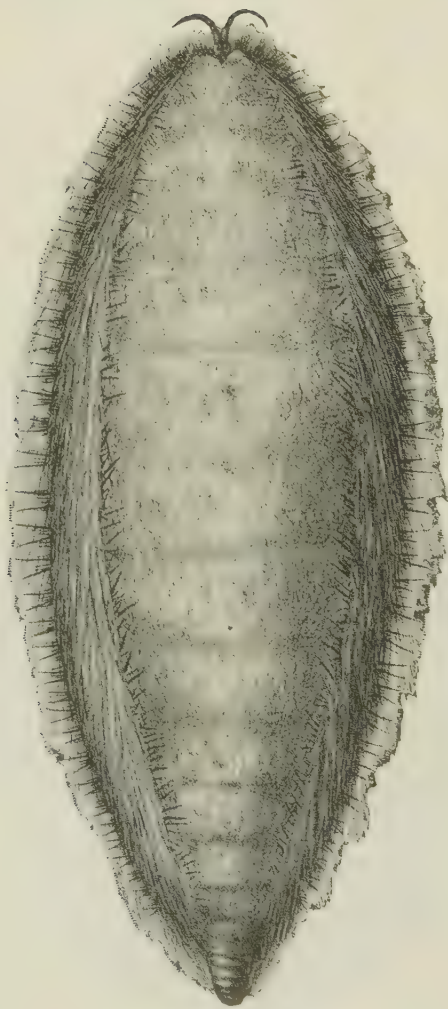


FIG. 9. — *Aphrodite aculeata* L. (face dorsale).

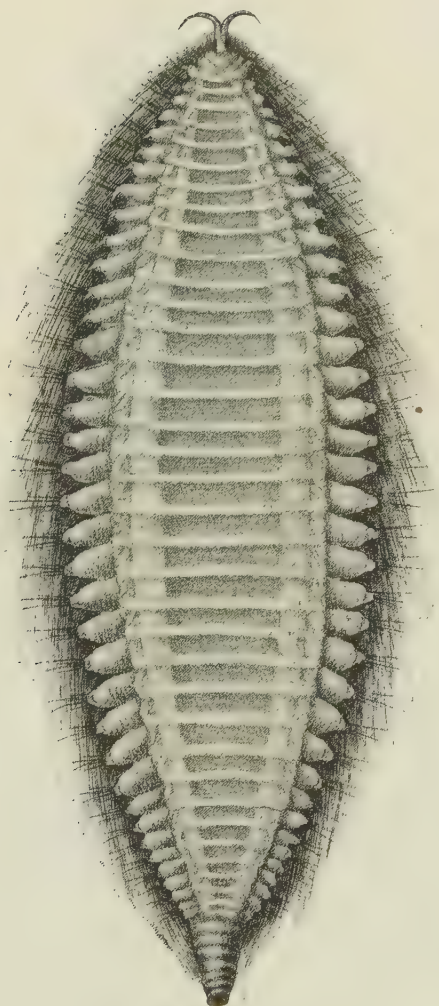


FIG. 10. — *Aphrodite aculeata* L. (face ventrale).

1° Les cellules excrétrices (*fig. 11*) ; leur noyau toujours assez petit se trouve dans la partie profonde, plongé dans du protoplasma dense. A la partie périphérique, de nombreuses vacuoles



FIG. 11. — *Aphrodite aculeata*. L.

Papille du cæcum formée de cellules excrétrices (d'après G. Darboux).

renferment un liquide incolore où flotte une concrétion jaunâtre ; l'une d'elles est plus développée que les autres.

2° Les cellules sécrétrices (*fig. 12*) ; dans leur protoplasma,



FIG. 12. — *Aphrodite aculeata* L.

Cellules sécrétrices de la paroi du cæcum (d'après G. Darboux).

privé de vacuoles, flottent, isolées ou réunies en amas de 4 à 20 gouttelettes hyalines et même plus, se colorant sur les coupes, en rouge vif par l'éosine, ou après fixation par un liquide à l'acide osmique, en rouge orangé par la safranine ; ce sont là des réactions de ferments.

3° Des cellules encore jeunes et indifférenciées. Parfois les cellules sont groupées en papilles; de celles-ci se détachent les « ballots d'excrétions » (*fig. 13*).

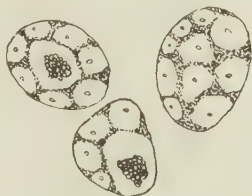


FIG. 13. — *Aphrodite aculeata* L.

Ballots d'excrétion [contenu du cæcum] (d'après G. Darboux).

ACTION PROTÉOLYTIQUE

On doit à KRUKENBERG (1) les premiers essais sur la nature digestive. Cet auteur signala en particulier un ferment protéolytique qui digérait énergiquement l'albumine en milieu neutre, alcalin et faiblement acide; toutefois, quelques heures de contact avec HCl à 0,2 pour 100 le détruisaient. Au lieu d'étudier directement le liquide extrait des cæcums frais, G. DARBOUX (2) s'est préoccupé de démontrer leur fonction sécrétrice. Voici comment il opérait : « Après avoir séjourné quelques jours dans l'alcool, les cæcums sont exposés à l'air libre, sur une feuille de buvard, jusqu'à complète évaporation de l'alcool qu'ils contenaient; la masse sèche ainsi obtenue, est pilée dans un mortier, avec un peu de sable préalablement lavé et séché. On traite le magma ainsi obtenu par l'eau thymolisée et l'on obtient ainsi l'extrait aqueux de cæcum sous la forme d'un liquide blanc jaunâtre.

Des tubes à essais, préparés d'autre part, contenaient les uns de l'eau pure, les autres de l'eau acidulée, d'autres enfin de l'eau additionnée de 1 à 2 pour 1.000 de carbonate de soude; dans

(1) KRUKENBERG, Vergleichend. physiologische Beiträge zur Kenntnis der Verdauungsvorgänge. *Untersuchungen des physiol. Inst. Heidelberg*, t. 2, 1882, p. 37-40.

(2) G. DARBOUX, Recherches sur les Aphroditens. *Travaux de l'Institut de Zoologie de l'Université de Montpellier et de la Station maritime de Cette*, 1899, Mémoire n° 6.

chacun de ces tubes se trouvait un petit fragment de fibrine de sang de porc. L'addition d'une petite quantité de l'extrait aqueux de cæcum à chacun de ces tubes amenait les résultats suivants :

Eau acidulée	Néant
Eau pure	Digestion de la fibrine
Eau alcalinisée	Digestion de la fibrine, plus rapide que dans le cas précédent

La durée de l'expérience n'a jamais excédé trois heures dans le second cas.

J'ai vérifié que des muscles d'Annélides divers, de Mollusques (*Tapes*) étaient aussi digérés. Enfin des fragments d'Arthropodes (*Crangon*) sont aussi complètement digérés, exception faite pour la chitine qui persiste. Nous voyons donc que les cæcums des Aphroditiens sont à la fois des organes sécréteurs et excréteurs ». Ces résultats diffèrent peu de ceux obtenus déjà par KRUKENBERG. Mais ces deux auteurs n'émettent aucune opinion précise sur la nature de la diastase protéolytique. Est-ce une pepsine ? Est-ce une trypsine ?

Recherches personnelles

EXPÉRIENCES

Action sur l'ovalbumine coagulée. — Un cube d'ovalbumine pesant 0 gr. 250, mis en présence de suc digestif d'*Aphrodite aculeata* à 40°, est digéré presque entièrement après trente-six heures.

Action sur la gélatine. — 4 centimètres cubes de gélatine à 10 pour 100 exactement neutralisée par du CO^3Na^2 , mis en présence de 0 cc. 1 de suc, ne gélifient plus après deux heures à 40°. Le liquide de digestion s'est notablement acidifié.

Action sur le lait. — On met dans un tube à essai stérilisé 10 centimètres cubes de lait frais, plus une goutte de suc digestif. On porte au bain-marie à 40°. Après quelques minutes, la caséine se précipite en flocons qui s'agglomèrent pour former un coagulum gélatineux. Ce coagulum est très rapidement dissout. Le lait s'éclaircit. Le liquide de digestion contient des amino-acides, titrables au formol. L'eau bromée donne la réaction du tryptophane,

Etude du milieu d'action. — Dans une série de tubes à essais on introduit 0 cc. 5 de suc digestif d'*Aphrodite aculeata* et des quantités

variables d'acide HCl N/5 et d'alcali CO^3Na^2 N/5, les volumes étant maintenus constants par addition convenable d'eau distillée. Le pouvoir protéolytique est mesuré par le procédé de METTE, après vingt-quatre heures à 40°. L'expérience est faite comparativement avec du suc de *Maja*.

	Réaction	Milligr. d'albumine dissoute après 28 heures à 40°	
		Aphrodite	Maja
0 cc. 5 de suc + 0,1 d'HCl N/5 + 0,4 H ² O	0 gr. 7 HCl % ₀₀	0,0	0,0
0 cc. 5 — + 0,0 — ± 0,5 H ² O	neutre	7,3	17
0 cc. 5 — + 0,1 CO ³ Na ² N/5 + 0,4 H ² O	1 gr. 0 CO ³ Na ² % ₀₀	4,0	8,7
0 cc. 5 — + 0,3 — + 0,2 H ² O	3 gr. 1 —	2,5	0,0
0 cc. 5 — + 0,5 — + 0 gr. H ² O	5 gr. 2 —	0,7	0,0

Le ferment d'*Aphrodite* résiste donc mieux que celui de *Maja* à l'action du milieu alcalin.

ACTION SUR DIVERSES MATIÈRES PROTÉIQUES

EXPÉRIENCES

Action sur le lait. — On prend 21 cc. 5 de lait dilué de moitié, on l'additionne de 0 cc. 5 de suc digestif; 2 centimètres cubes sont prélevés pour le dosage de N¹, 5 centimètres cubes pour déterminer la teneur en azote non précipitable par l'acide trichloracétique (N² + N³), 5 centimètres cubes pour N³. Les 10 centimètres cubes qui restent sont laissés quinze heures à 40°. On dose alors les mêmes éléments dans 5 centimètres cubes de liquide.

Action sur le sérum de Maja. — Même dispositif expérimental, le lait est remplacé par du sérum de *Maja* dilué de moitié par du sérum physiologique.

Action sur la gélatine. — 21 cc. 5 de gélatine à 10 pour 100 sont mis en présence de 0 cc. 5 de suc. On dose N¹ et N³ (Voir Tableau XVIII).

La caséine a été digérée à peu près totalement (96,3 pour 100).

La valeur du rapport $\frac{\text{N}^2}{\text{N}^3}$ est voisine de 1.

On constate pour le sérum de *Maja* une digestion relativement bonne (13,4 pour 100 après quinze heures et 33,9 pour 100 après vingt-cinq heures).

TABLEAU XVIII

SOLUTIONS PROTÉIQUES	DURÉE des DIGESTIONS	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)				GAIN NET			RAPPORTS	
		N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ² + N ³	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Caséine	Avant digestion	48,00	43,52	2,24	2,24				—	—
	Après 15 heures	48,00	2,10	27,98	17,92	41,42	23,74	13,68	96,3	4,6
Sérum <i>Maja</i>	Avant digestion	72,00	63,40	0,00	5,60					
	Après 15 heures	72,00	57,54	5,50	8,96	8,86	5,50	3,36	13,4	1,6
	+ 25 heures	72,00	44,00	12,32	15,68	13,54	6,82	+ 6,72	33,9	1,0
Gélatine	Avant digestion	120,00		—	5,60	—	—	—		
	Après 15 heures	120,00			25,70	—	—	20,10	16,7	—
	+ 25 heures	120,00	—		31,30	—	—	+ 5,60	21,3	—

Les amino-acides se forment facilement aux dépens de la gélatine (16,7 pour 100 après quinze heures de digestion et 21,30 après vingt-cinq heures).

ACTION SUR LA CASÉINE APRÈS DES TEMPS VARIABLES

EXPÉRIENCES

On mélange 40 centimètres cubes de lait dilué de moitié et 1 centimètre cube de suc. On dose immédiatement N^1 ($N^2 + N^3$), N^3 (témoin) avec 2 centimètres cubes pour N^1 , 5 centimètres cubes pour ($N^2 + N^3$), 5 centimètres cubes pour N^3 . Le reste du liquide est porté à 40°. Les mêmes éléments sont dosés après trente minutes, deux heures, dix-huit heures sur 5 centimètres cubes de liquide (*Voir Tableau XIX*).

La digestion globale de la caséine, dans cette expérience, s'est élevée jusqu'à 80,7 pour 100 après trente minutes. La marche du phénomène s'est ralentie dans la suite pour atteindre 83,3 pour 100 après deux heures et 88,5 pour 100 après dix-huit heures. La valeur du rapport $\frac{N^2}{N^3}$ a varié en sens inverse, de 2,44 après trente minutes à 1,6 après deux heures pour finalement arriver à 1,1 après dix-huit heures.

La peptonisation atteint donc rapidement son maximum, tandis que la mise en liberté des amino-acides ne se fait que progressivement.

On dira en résumé que l'ovalbumine est facilement dissoute par le suc digestif d'*Aphrodite aculeata*.

Le ferment est favorisé par le milieu neutre ou faiblement alcalin.

De faibles doses d'acide suffisent pour l'anéantir.

L'action hydrolytique montre un processus nettement tryptique.

TABLEAU XIX

DURÉE DE LA DIGESTION	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)				GAIN NET			RAPPORTS	
	N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ² +N ³	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^4}$	$\frac{N^2}{N^4}$
Avant digestion....	48,00	42,96	2,24	2,80	—	—	—	—	—
Après									
30 minutes	48,00	8,24	26,88	12,88	34,72	24,64	40,08	80,7	2,4
2 heures	48,00	7,14	24,62	16,24	35,82	22,38	13,44	83,3	4,6
18 heures	48,00	4,88	22,40	20,72	38,08	20,16	17,92	88,5	1,1

CHAPITRE V

Recherches sur l'action éreptique (Cohnheim) ou peptolytique (Abderhalden)

L'étude précédente nous a renseigné sur l'action protéolytique, dissociée elle-même en ses deux éléments : Action peptonisante d'une part, action éreptique d'autre part. Elle nous a montré, en outre, qu'il n'était pas nécessaire de recourir à l'emploi d'agents activateurs, analogues à la kinase des Vertébrés, dont les recherches de PAWLOW et CHEPOWALNIKOFF (1) sur le Chien, de DELEZENNE (2) sur beaucoup d'autres animaux et de nous-même (3) sur les Poissons cartilagineux ont établi l'importance.

On pourrait, sans doute, supposer l'existence intra-glandulaire d'une diastase activante qui conférerait l'activité à une protrypsine, mais toutes les tentatives pour en démontrer la réalité ont jusqu'ici échoué.

Quoi qu'il en soit, il resterait à étudier l'ordre d'apparition des acides aminés au cours de la protéolyse, puis l'action du ferment sur les divers polypeptides de synthèse. Des expériences comparatives exécutées avec des sucres de diverses provenances, sur des matières protéiques variées, aboutiraient probablement à des conclusions intéressantes, car toute la question de la spécificité des ferments protéolytiques est comprise dans cette

(1) CHEPOWALNIKOFF, La physiologie du suc intestinal. *Thèse inaug. de Saint-Pétersbourg*, 1899.

(2) DELEZENNE, L'entérokinase et l'action favorisante du suc intestinal sur la trypsine dans la série des Vertébrés. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1901, p. 1164.

(3) J. SELLIER, De l'action favorisante du suc intestinal sur la digestion pancréatique des matières albuminoïdes chez les Poissons cartilagineux. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1902, p. 1407.

étude. On sait d'ailleurs combien ont été fécondes les recherches de FISCHER et d'ABDERHALDEN exécutées dans cette voie. Nos expériences chez les Invertébrés n'ont pas encore été poussées bien loin, car nous n'avons pu nous procurer de polypeptides de synthèse. Toutefois, nous avons pu caractériser certains acides aminés à l'aide de quelques réactions simples.

Inactive sur les albumines natives (sauf la caséine), l'érepsine dissocie, au contraire, beaucoup de polypeptides en leurs constituants amino-acides. ABDERHALDEN a désigné ce phénomène sous le nom de *peptolyse* et il a appelé *ferment peptolytique* l'agent transformateur. Ces « polypeptidases » paraissent d'ailleurs très répandues. ABDERHALDEN (1) et ses collaborateurs les ont rencontrées dans le foie, les muscles, le rein, etc., de divers animaux (Chien, Bœuf, Cheval, Lapin, etc.), VERNON, dans le pancréas et dans le foie, BERGMANN, dans la muqueuse intestinale des Herbivores, SAVARÉ, dans le placenta humain, FALLOISE, dans l'hépatopancréas des Céphalopodes.

Ces agents ne paraissent pas identiques, car la décomposition des peptides varie avec le suc étudié (2).

Le meilleur procédé pour une telle étude, d'après ABDERHALDEN, consiste à employer, parmi ces derniers corps, ceux qui sont optiquement actifs et à suivre pas à pas les variations de leur pouvoir rotatoire durant leur décomposition.

D'autres méthodes, moins précises mais plus simples, peuvent être utilisées. On peut notamment choisir ceux qui donnent la réaction du biuret, mais dont les produits de transformation ne la donnent pas, ou utiliser des polypeptides qui libèrent du tryptophane, dont l'eau bromée décèle la présence.

Avec ces deux derniers procédés, il faut tenir compte du fait que la solution albumineuse de ferment peut donner par elle-même la réaction du biuret et même libérer du tryptophane.

Enfin une technique commode, et suffisamment exacte, consiste dans l'emploi de peptides solubles, mais contenant des amino-acides insolubles dans l'eau (tyrosine, leucine, cys-

(1) Voir pour la bibliographie de cette question : Maurice JAVILLIER, Les ferments protéolytiques, 1909, p. 183 et 184. Vigot frères, éditeurs, Paris.

(2) La pepsine ne libère jamais d'amino-acides (voir Tableau II). Elle est aussi totalement inactive sur les polypeptides.

tine, etc). Leur décomposition sera décelée par la précipitation de l'acide aminé.

Nos recherches ont été exécutées à l'aide des procédés suivants :

1° Méthode de SÖRENSEN.

2° Procédé des peptones ROCHE.

3° Procédé de la disparition de la réaction du biuret.

4° Réaction de l'eau bromée.

5° Réaction de la tyrosinase.

Méthode de Sørensen. — Ce procédé nous fixait sur la valeur globale de la protéolyse. Nous avons exposé son principe à la page 13.

Procédé des peptones Roche. — Cette substance, obtenue par hydrolyse partielle de la soie, est riche en tyrosine. L'érepsine, en décomposant la peptone, provoquera la précipitation de ce dernier corps; ceci permettra de constater et même de mesurer l'intensité du phénomène.

Voici comment nous avons opéré : On prend 2 centimètres cubes de peptone ROCHE à 10 pour 100 exactement neutralisée. On ajoute 0 cc. 1 de suc digestif. Le tube, placé au bain-marie à 40°, est examiné de temps en temps. Lorsque le suc est très actif, la tyrosine précipite rapidement, le phénomène est déjà manifeste après quelques heures. Au contraire, si l'action est faible, il est nécessaire de prolonger l'expérience de trois à quatre jours. On laisse alors refroidir, car la tyrosine est encore moins soluble à froid.

Procédé de la disparition de la réaction du biuret. — Nous avons expérimenté de la façon suivante : On prend 5 centimètres cubes de solution neutre et toluénée de peptone de WITTE à 5 pour 100; on l'additionne de 0 cc. 1 de suc digestif. Le tube est placé au bain-marie à 40°. La disparition de la réaction du biuret prouve l'existence de l'érepsine.

Réaction de l'eau bromée. — L'existence du tryptophane est facilement décelée par cette réaction. Voici un type d'expérience : On prend 10 centimètres cubes de lait + 0 cc. 1 de suc digestif. Le tout est placé au bain-marie à 40°. Après des temps variables, trois heures, six heures, douze heures, etc., on ajoute par goutte de l'eau de brome. L'apparition de la couleur rouge vio-

lacé indique la présence de ce corps à l'état libre. On peut même, à l'aide de ce procédé, noter approximativement la rapidité et l'intensité du processus.

Réaction de la tyrosinase. — Une réaction biologique nous a permis de constater et même de mesurer qualitativement la libération de la tyrosine. Pour cela, nous avons utilisé le liquide cœlomique des Crustacés, qui contient de la tyrosinase (1), l'expérience suivante le prouve :

On place dans un tube 10 centimètres cubes d'une solution saturée à froid de tyrosine et on y ajoute 0 cc. 1 de liquide cœlomique de Crustacés (*Maja* ou *Cancer*). Au bout de peu de temps apparaît une coloration d'abord brune, puis de plus en plus foncée. Un témoin contenant les mêmes substances, mais préalablement porté à l'ébullition, conserve indéfiniment sa coloration initiale.

Le Tableau XX contient les résultats obtenus avec ces diverses méthodes.

Chez *Maja*, l'action du suc sur le sang est toujours intense. Le tryptophane est rapidement libéré. Les peptones de WITTE sont facilement transformées en corps abiurétiques. Au contraire, toutes choses égales, la précipitation de la tyrosine est plus lente. On constate chez *Cancer* et *Homarus* les mêmes phénomènes, mais plus affaiblis.

(1) La découverte de la tyrosinase dans le sang des Crustacés est attribuée à F. HEIM (voir OTTO VON FÜRTH, *Vergleichende chemische Physiologie*, p. 78, en note). Cet auteur vit sans doute la formation d'un pigment dans le sang des Crustacés sous l'influence de la trypsine, mais il n'en comprit pas le mécanisme. La notion de ferment oxydant, en effet, due à G. BERTRAND, daté seulement de 1896, époque où il signala l'action de la tyrosinase sur la matière chromogène cristallisée (tyrosine) de la Russule. (Sur une nouvelle oxydase ou ferment soluble oxydant d'origine végétale. *Bulletin de la Société chimique de Paris*, 3^e série, t. 15, 1896, p. 794).

Voici d'ailleurs comment s'exprime F. HEIM (Etudes sur le sang des Crustacés décapodes. *Thèse de la Faculté des sciences de Paris*, 1892, p. 67) :

« Nos essais nous permettent de conclure que ce corps (mélanine), ou du moins un corps très voisin, naît en l'absence totale d'hémoglobine. Il apparaît chez les Crustacés vraisemblablement à la suite de l'action de la trypsine contenue dans le foie et le sang sur les albuminoïdes. Le résultat de cette fermentation serait l'apparition de corps analogues à l'indol et au scatol; ces corps jouissent, on le sait, de la propriété de fixer l'oxygène pour donner naissance à des pigments noir violacés ». Et plus loin, page 119 : « Un véritable pigment mélanique se forme, *in vitro*, par action d'une trypsine sur les albuminoïdes du sang et du foie et au contact de l'oxygène. »

TABLEAU XX

+++ = Action rapide. ++ = Action assez rapide. + = Action lente
0 = Action nulle

SUCS DIGESTIFS	Activité peptolytique globale (Méthode au formol)	Lait	Sérum Crustacés (<i>Maja</i> <i>Cancer</i>)	Peptones ROCHE	Peptones WITTE
		Tryptophane Réaction	Noircissement Tyrosinase	Précipitation de la tyrosine	Disparition de la réaction du biuret
Suc gastrique pur de Chien	0	0	0	0	0
Pancréatine GRÜBLER	+++	+++	++	+++	++
CRUSTACÉS					
<i>Maja squinado</i>	+++	+++	+	++	+++
<i>Cancer pagurus</i>	++	+	—	+	+
<i>Homarus vulgaris</i>	++	+	—	+	+
CÉPHALOPODES					
<i>Sepia officinalis</i>	++	++	+++	+++	+
<i>Loligo vulgaris</i>	++	++	+++	+++	+
VERS					
<i>Aphrodite aculeata</i>	+++	++	++	++	++
GASTÉROPODES					
<i>Helix pomatia</i>	0	0	0	0	0
<i>Aplysia fasciata</i>	0	0	0	0	0
<i>Aplysia punctata</i>	0	0	0	0	0

Le suc du cæcum des Céphalopodes (*Sepia*, *Loligo*) a une action moindre que chez les Crustacés.

La réaction du biuret ne disparaît pas complètement, même après huit jours de digestion à 40°. Ce dernier fait est conforme aux résultats de FALLOISE.

Au contraire, le tryptophane apparaît promptement dans le lait éclairci par l'action digestive. Le brunissement du sang des Crustacés se produit rapidement; la couleur devient noire comme de l'encre.

On constate chez *Aphrodite aculeata* des faits analogues à ceux des Crustacés.

Des expériences semblables ont toujours fourni chez *Helix* et *Aplysia* des résultats négatifs.

RECHERCHES SUR LES FERMENTS ÉREPTIQUES DES TISSUS

Nous venons de constater l'action éreptique des sucs digestifs; il nous a paru nécessaire de rechercher ce phénomène dans divers tissus d'Invertébrés. ABDERHALDEN, après l'avoir signalé dans des organes ne contenant pas de ferments protéolytiques, a fait avec R. HEISE (1) quelques expériences dans ce sens chez les Invertébrés. Ils isolaient l'intestin moyen de divers êtres, puis, après l'avoir débarrassé de son contenu, ils le plaçaient dans une solution neutre de peptone ROCHE à 50 pour 100. Le tout additionné de toluol était porté à 37°. Les cristaux de tyrosine se déposaient sur l'intestin d'abord, puis au fond du tube. La précipitation, souvent notable après quelques heures, n'augmentait plus après le troisième jour. On pesait la tyrosine après filtration.

C'est cette technique fort simple que nous avons employée. Voici comment les expériences étaient conduites :

1° Dans une solution de peptone ROCHE à 10 pour 100 (2 centimètres cubes), neutralisée par du carbonate de soude, on introduisait soit un petit morceau d'organe (foie, muscle, etc.) fraîchement prélevé sur l'animal vivant et aussitôt lavé avec

(1) ABDERHALDEN et HEISE, Ueber das Vorkommen peptolytischer Fermente bei den Wirbellosen. *Zeitschrift für physiolog. Chemie*, 1909, t. 62, p. 138-139

une solution physiologique de chlorure de sodium, soit une portion d'intestin moyen, ou bien encore, 0 cc. 5 de sang ou de liquide de la cavité générale. On plaçait le tout au bain-marie à 40°, après l'avoir additionné de quelques gouttes de toluol.

2° Dans un mortier contenant du sable lavé et 2 à 4 centimètres cubes d'eau distillée, on broyait 0 gr. 500 de tissus, puis on ajoutait peu à peu 10 centimètres cubes de lait. On versait le mélange homogène dans un tube à essai, lequel était porté au bain-marie à 40° après addition de quelques gouttes de toluol. Au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, on recherchait le tryptophane.

Nos résultats sont consignés dans le Tableau XXI.

Toutes ces expériences montrent l'étroite relation de la peptolyse et de la fonction protéolytique. L'intestin moyen et son annexe l'hépto-pancréas sont, en effet, seuls capables de libérer de la tyrosine ou de fournir du tryptophane. Toutefois, lorsque l'expérience se prolonge quelques jours, on aperçoit même sur le muscle (Crustacés, Céphalopodes) quelques rares cristaux de tyrosine. Le sang et le liquide de la cavité générale sont constamment inactifs.

Les organes digestifs d'*Helix* et d'*Aplysia* ont une action également nulle.

Enfin la marche du phénomène est variable. La tyrosine et le tryptophane ne se libèrent pas, en effet, en proportions équivalentes chez les divers êtres que nous avons étudiés. Chez les Echinodermes notamment (Synapte, Oursin), la tyrosine précipite facilement, tandis que le tryptophane est mis lentement en liberté. C'est l'inverse chez *Sipunculus* et *Arenicola*.

En résumé, ces diverses expériences démontrent l'existence chez les Invertébrés d'une diastase analogue à l'érepsine. On ne la rencontre que dans les sucs ou organes digestifs qui possèdent une action protéolytique.

TABLEAU XXI

+++ = Action rapide. ++ = Action plus lente. + = Action lente.
0 = Pas d'action. — = N'a pas été recherchée.

ESPÈCES ANIMALES	PEPTONES ROCHE				CASÉINE			
	Précipitation de la tyrosine				Tryptophane Réaction			
	Foie hépatopancr.	Intestin moyen	Muscle	Sang ou liquide de cavité général.	Foie ou hépatopancr.	Intestin moyen	Muscle	Sang ou liquide de cavité général.
ECHINODERMES								
<i>Asterias rubens</i>	+++	—	—	—	+	—	—	—
<i>Synapta digitata</i>	—	+++	—	—	—	Traces	—	—
<i>Strongylocentrotus lividus</i>	—	+++	—	—	—	Traces	—	—
VERS								
<i>Sipunculus nudus</i>	—	+	—	—	—	+++	—	0
<i>Arenicola piscatorum</i>	—	—	—	—	—	+++	—	0
CÉPHALOPODES								
<i>Sepia officinalis</i>	+++	—	0	0	++	—	0	0
<i>Loligo vulgaris</i>	++	—	0	0	++	—	0	0
CRUSTACÉS								
<i>Maja squinado</i>	++	—	Traces	0	++	—	0	0
<i>Cancer pagurus</i>	+	—	Traces	0	+	—	0	0
<i>Homarus vulgaris</i>	+	—	Traces	0	+	—	0	0
GASTÉROPODES								
<i>Helix aspersa</i>	0	—	0	0	0	—	0	0
<i>Aplysia fasciata</i>	0	—	0	0	0	—	0	0
<i>Aplysia punctata</i>	0	—	0	0	0	—	0	0

CHAPITRE VI

I

La présure des Invertébrés

La présure a été signalée par MESNIL (1) dans l'extrait des filaments mésentériques d'Actinies, par COTTE (2), chez les Spongiaires (*Suberites*), par COHNHEIM (3), dans le foie du Poulpe, par GERBER et DAUMEZON (4) chez les Tuniciers.

Mais ces auteurs s'étant bornés à constater l'action coagulante de la diastase sur le lait, n'ont pas observé les divers phénomènes qui se succèdent au cours de cette action.

Nous-même, dans plusieurs notes (5) échelonnées de 1906 à 1909, nous avons fait les mêmes constatations en serrant la question

(1) Félix MESNIL, Recherches sur la digestion intra-cellulaire et les diastases des Actinies. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1901, t. 15, p. 384.

(2) Jules COTTE, Note sur les diastases du *Suberites domuncula* (Spongiaires). *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1901, p. 96.

(3) COHNHEIM, Weitere Mittheilungen über Eiweissresorption. Versuche an Octopoden. *Zeitschrift für physiol. Chemie*, 1902.

(4) GERBER et DAUMEZON, La présure des Ascidies. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1909, p. 193.

(5) J. SELLIER, Existence de la présure dans le suc digestif des Crustacés. *Congrès de l'Association française pour l'avancement des sciences*. Lyon, août 1906.

Existence de la présure dans le suc digestif des Crustacés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1906, t. LXI, p. 449.

Existence de la présure chez les Invertébrés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1907, t. LXII, p. 693.

Action présurante et protéolytique du suc digestif des Céphalopodes. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1907, p. 703.

Sur l'identité du ferment protéolytique et de la présure. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1908, p. 734.

Quelques conditions réclamées par les sucs digestifs protéolytiques des Invertébrés marins pour la mise en évidence de leur action présurante. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1909, t. LXVII, p. 237.

de plus près, sans l'étudier à fond, chez les Crustacés décapodes, les Mollusques céphalopodes, les Annélides et les Echinodermes. Nous nous proposons ici de décrire en détail les expériences plus complètes que nous avons faites ultérieurement et d'énoncer les conclusions qui en découlent.

Or voici ce qu'apprend une première expérience : Dans un tube à essai contenant 10 centimètres cubes de lait, on ajoute du suc de *Maja* venant d'être recueilli dans la poche gastrique. Après quelque temps au bain-marie à 40°, le lait est entièrement coagulé et le tube peut être retourné sans qu'une seule parcelle de substance s'en détache. Dans la suite le coagulum formé se dissout jusqu'à complète disparition. Il est remplacé par un liquide clair et légèrement opalescent.

Cette expérience montre la succession de deux phénomènes :

- 1° La coagulation de la caséine (action présurante) ;
- 2° La dissolution du caillot (action digestive).

Toutefois le premier ne se produit pas toujours. Il n'apparaît que si l'expérience porte sur des doses faibles de suc.

Exemple. — Si à 10 centimètres cubes de lait on ajoute 1/2 goutte ou 1 goutte de suc, la coagulation se produit nettement. Avec des doses plus élevées (0 cc. 1, 0 cc. 2, 0 cc. 3), le phénomène se manifeste plus promptement encore, mais le coagulum reste mou et gélatineux. Enfin 1 centimètre cube digère rapidement la caséine, mais sans coagulation préalable.

Etude de l'action présurante. — L'expérience suivante fait connaître la loi qui régit la coagulation du lait par les doses faibles.

EXPÉRIENCE

On place au bain-marie à 40° des tubes à essais qui contiennent chacun 5 centimètres cubes de lait frais de vache. On les additionne respectivement de : 1 goutte, 1/2, 1/5, 1/10, 1/20 de goutte de suc digestif. On note les temps de coagulation, qui sont de 3, 6, 14, 34, 64 minutes.

Le produit de la proportion de diastase par ces temps de coagulation est un nombre constant (3 environ). En effet : $3 \times 1 = 3$; $6 \times 1/2 = 3$; $14 \times 1/5 = 2,8$; $34 \times 1/10 = 3,4$; $64 \times 1/20 = 3,2$.

Le phénomène présurant obéit donc à la loi de proportionna-

lité (loi de SEGELKE-STORCH) et l'on sait par les^{es} expériences de DUCLAUX (1) que la présure HANSEN suit cette loi pour des volumes de lait compris entre 2.000 et 12.000 fois le volume de présure. On sait aussi que dans les mêmes conditions d'expériences la pepsine fournit des résultats différents; en effet, IVAR BANG (2) d'abord, puis BRIOT (3) ont constaté que les coagulations obtenues avec la parachymosine sont toujours très rapides. Une dose de pepsine coagule en un temps T, par exemple, une certaine quantité de lait, tandis que $\frac{A}{2}$ ne coagule pas le même volume en un temps 2 T, mais en un temps plus long, ou même pas du tout.

GERBER (4) a toutefois signalé l'exactitude de la loi à la température de 25° et G. BECKER (5) a observé le même phénomène en opérant avec du suc gastrique humain sur du lait acidifié par l'acide chlorhydrique.

Etude du phénomène digestif. — Le tube étant laissé au bain-marie à 40°, le coagulum perd peu à peu sa consistance. Il devient d'abord mou et gélatineux, puis il se dissout peu à peu; il est bientôt remplacé par un liquide clair et légèrement opalescent. L'eau bromée y décèle le tryptophane. L'addition de formol neutre y fait apparaître une acidité due à des amino-acides.

La caséine a donc été digérée suivant le processus tryptique.

DUCLAUX (6), qui avait observé des phénomènes analogues en opérant avec des présures microbiennes (*Tyrothrix tenuis*) ou avec des morceaux de pancréas, considérait qu'il en était toujours ainsi lorsque, dans le liquide diastasique, « la caséase est

(1) DUCLAUX, Traité de microbiologie. Première partie : Etude systématique des diastases, p. 163.

(2) IVAR BANG, Ueber Parachymosin, ein neues Labferment. *Pflüger's Archiv*, vol. 79, p. 423-441.

(3) BRIOT, Etudes sur le Labferment des solutions de pepsine ou parachymosine. *Journal de physiologie et de pathologie générales*, 1907, p. 784-792.

(4) GERBER, La loi de Segelke-Storch et la parachymosine. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 30 novembre 1907, p. 575.

(5) G. BECKER, Untersuchungen über das Zeitgesetz des menschlichen Labfermentes und dessen qualitativen Bestimmung. *Beiträge zur chem. Physiol. und Pathol.*, vol. 7, p. 89-120.

(6) DUCLAUX, *Loc. cit.*, p. 621-623.

en excès sur la présure ». La caséase étant, d'après cet auteur, le ferment qui liquéfie le coagulum.

Mais nos expériences prouvent que cette dernière doit être confondue avec la trypsine, car les produits auxquels elle donne naissance sont des acides aminés.

La digestion sans coagulation préalable par les fortes doses de ferment paraît attribuable aux modifications rapides de la caséine sous l'influence de l'agent protéolytique, qui l'empêcherait de se prendre en masse. D'ailleurs, KÜHNE (1) avait déjà observé que l'extrait de pancréas coagule le lait comme la présure, mais si l'extrait pancréatique n'était pas *atténué*, on observait simplement la digestion sans coagulation.

PAWLOW (2) de son côté, en étudiant le suc pancréatique kinasé de Chien, constata que l'action présurante était fugitive et difficile à déterminer avec les doses fortement actives, aussi acidifiait-il le lait afin de le rendre plus facilement coagulable en retardant sa digestion protéolytique.

Tous ces faits sont identiques à ceux que nous venons de signaler chez les Crustacés. On les reproduira facilement en opérant avec un suc ou un extrait glandulaire à *processus tryptique*.

Les expériences suivantes, exécutées avec de la Gastérine FRÉMONT (suc gastrique pur de Chien), apportent, en effet, un argument nouveau en faveur de cette manière de voir.

EXPÉRIENCES

Dans un tube à essai *a* on introduit 10 centimètres cubes de lait frais, plus deux gouttes de Gastérine FRÉMONT (3), plus quelques gouttes de toluol. On porte à 40°. On fait des mélanges identiques dans un tube *b*, mais le suc digestif a été porté préalablement à 100° (témoin). Après douze heures, on voit dans le tube *a* un coagulum mou. En *b* le lait

(1) KÜHNE, d'après BRIOT, Thèse de la Faculté des sciences de Paris, 1900, p. 53.

(2) PAWLOW et PARASTSCHUK, Ueber die ein und demselben Eiweissfermente zukommende proteolytische und milchkoagulierende Wirkung verschiedener Verdauungssäfte. *Zeitschrift für physiol. Chemie*, t. 42, p. 443-452.

(3) Le suc acide n'a pas été neutralisé, car la présure peptique (parachymosine) est très sensible à l'alcali. Mais la cause d'erreur provenant de ce fait est négligeable, vu la très faible quantité de Gastérine mise en expérience (deux gouttes). Le tube témoin renseigne, d'ailleurs, sur la nature de la coagulation.

est resté normal; peu à peu le coagulum de *a* devient plus compact, il se colle à la paroi du tube, il se rétracte; après huit jours il est encore volumineux, il baigne dans un liquide louche.

Après trois jours, une précipitation floconneuse de la caséine s'est effectuée en *b*, causée par l'acidification du lait. Après huit jours l'aspect est identique.

L'eau bromée ne donne la réaction du tryptophane pas plus en *a* qu'en *b*. L'acidité après formol (très faible) est identique dans les deux tubes. Il n'y a donc pas eu libération d'amino-acides.

LA PRÉSURE DES INVERTÉBRÉS EST TOUJOURS ASSOCIÉE A UN FERMENT A PROCESSUS TRYPTIQUE

L'action sur le lait du suc digestif des Crustacés nous a permis de constater son action, à la fois présurante et tryptique. D'autres groupes d'Invertébrés nous montrent qu'il en est toujours ainsi. Toutefois, pour déceler le premier phénomène (en dehors des doses faibles de suc), il faut employer, quelquefois, certains artifices, tels que acidification légère du lait ou addition de faibles quantités de chlorure de calcium.

La coagulation ainsi obtenue ne doit pas être attribuée à ces agents activateurs, car des expériences témoins indiquent qu'elle est due uniquement au ferment.

Nous prenions, en outre, la précaution d'ajouter aux liquides d'expériences quelques gouttes de toluol afin d'éviter l'ingérence des microbes.

Voici comment nous avons opéré :

Dans un mortier, en présence de 1 centimètre cube d'eau distillée et de quelques gouttes de toluol, on broyait 0 gr. 500 de tissus (foie, hépato-pancréas, intestin moyen) venant d'être prélevés sur l'animal vivant. Le tout, placé dans un tube à essai, était additionné de 10 centimètres cubes de lait, puis porté au bain-marie à 40°. On notait le temps de coagulation. Les mêmes essais étaient faits avec du lait légèrement acidifié ou calcifié et avec des macérés préalablement bouillis.

Dans d'autres expériences (si cela nous était possible), nous expérimentions avec du suc recueilli dans la poche gastrique.

A côté de l'action coagulante nous notions toujours la présence ou l'absence de tryptophane.

Les résultats obtenus sont consignés dans le Tableau XXII.

TABLEAU XXII

ESPÈCES ANIMALES	SUC DIGESTIF ou macérés d'organes	POUVOIR PRÉSURANT		Réaction du tryptophane dans liquide de digestion après 24 heures
		Lait normal	Lait calcifié	
ECHINODERMES				
<i>Asterias rubens</i>	Cæcums radiaires	+	++	positive
<i>Synapta digitata</i>	Intestin	0	0	0
<i>Strongylocentrotus lividus</i>	Intestin	+	++	positive
VERS				
<i>Sipunculus nudus</i>	Intestin	++	+++	positive
<i>Arenicola piscatorum</i>	Intestin	++	+++	positive
<i>Aphrodite aculeata</i>	Suc des cæcums	+	++++	positive
CRUSTACÉS DÉCAPODES				
<i>Maja squinado</i>	Suc stomacal	+++	++++	positive
<i>Cancer pagurus</i>	Hépatopancre.	+	+++	positive
<i>Astacus fluviatilis</i>	Hépatopancre.	+	+++	positive
CÉPHALOPODES				
<i>Sepia officinalis</i>	Suc stomacal	+	++++	positive
<i>Loligo vulgaris</i>	Hépatopancre.	+	+++	positive
<i>Octopus vulgaris</i>	Hépatopancre.	++	+++	positive
GASTÉROPODES				
<i>Aplysia fasciata</i>	Suc stomacal ou foie	0	0	négative
<i>Aplysia punctata</i>		0	0	négative
<i>Helix pomatia</i>		0	0	négative
LAMELLIBRANCHES				
<i>Mya arenaria</i>	Foie	0	0	négative
<i>Mytilus edulis</i>	Foie	0	0	négative
Pancréatine GRÜBLER	—	+++	++++	positive
Gastérine FREMONT (pepsine)	—	+++	++++	négative

Cette étude montre que l'action coagulante et l'action protéolytique (mesurée par la libération du tryptophane) marchent toujours de pair. Ses résultats concordent avec ceux concernant les Crustacés; ils indiquent une association constante de la présure et de la trypsine.

Nous devons ajouter que le suc d'*Aphrodite aculeata*, faiblement coagulant sur le lait normal, est au contraire très actif sur le lait calcifié ou faiblement acidifié. Le phénomène se produit dans le minimum de temps, toutes choses égales, à la température de 70° à 72° qui est voisine de celle où le ferment protéolytique est détruit.

Chez les Mollusques céphalopodes (*Sepia*, *Loligo*), le suc du cæcum, fortement protéolytique, coagule difficilement le lait normal ou acidifié; le phénomène est, au contraire, très rapide sur le lait calcifié.

Enfin, des expériences de comparaison, exécutées soit avec des extraits de muscles ou d'organes génitaux, soit avec du sang ou autres liquides organiques, ont constamment fourni des résultats négatifs, même quand le lait était acidifié ou calcifié.

La présure est donc très répandue chez les Invertébrés. Nous l'avons décelée dans tous les sucs digestifs ou extraits d'organes possédant un ferment à processus tryptique.

II

Propriétés de la présure des Invertébrés

Nous venons de caractériser la diastase à processus tryptique qui accompagne l'agent coagulant. Il nous reste à étudier les propriétés de cette présure dans le but de la distinguer ou de l'identifier avec celles déjà connues.

ACTION DE LA TEMPÉRATURE SUR LE POUVOIR PRÉSURANT DU SUC CHAUFFÉ

EXPÉRIENCES

Du suc digestif de *Maja* placé en tube scellé est porté à des températures progressivement croissantes : *a*, à 55° ; *b*, à 60° ; *c*, à 65° ; *d*, à 70° ; *e*, à 75°, pendant une demi-heure.

On mesure ensuite l'activité présurante par rapport au même suc normal témoin.

- | | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|---------------------|
| <i>a</i>) Suc normal. | 0 cc. 2 + 5 cc. lait = coagulation en | 1' |
| <i>a</i>) Suc à 55° | 0 cc. 2 + 5 cc. lait = coagulation en | 1' |
| <i>b</i>) Suc à 60° | 0 cc. 2 + 5 cc. lait = coagulation en | 5' |
| <i>c</i>) Suc à 65° | 0 cc. 2 + 5 cc. lait = coagulation en | 50' |
| <i>d</i>) Suc à 70°-72° | 0 cc. 2 + 5 cc. lait = coagulation en | 1 h. 40' |
| <i>e</i>) Suc à 75° | 0 cc. 2 + 5 cc. lait = | pas de coagulation. |

Cette expérience montre l'atténuation progressive du ferment à partir de 60° jusqu'à 70°-72°. A 75° il est totalement anéanti.

COAGULATION DU LAIT CHAUFFÉ A DIVERSES TEMPÉRATURES

EXPÉRIENCES

Dans une série de tubes à essais on introduit 10 centimètres cubes de lait, on les place respectivement à 25°, 40°, 55°, 60°, 65°, 75°, 85°. On introduit alors dans chacun des tubes soit 0 cc. 1 de suc de *Maja*,

soit 0 cc. 5 de macéré hépato-pancréatique du même animal. On note les temps de coagulation.

		TEMPS DE COAGULATION	
		0 cc. 1 suc <i>Maja</i>	0 cc. 5 macéré hépato-pancréatique
Lait porté à 25° (10 cc.)		15'	18'
— à 40°		2'	8'
— à 55°		1'	4'
— à 60°		0' 30"	3'
— à 65°		0' 20"	2' 30"
— à 75°		0' 15"	—
— à 85°		Néant	Néant

Tandis que la présure ordinaire exerce son maximum d'action vers 40°, cette série d'expériences montre que l'activité du ferment de *Maja* croît avec la température jusque vers 75°; son optimum est voisin de la température de destruction.

GERBER (1) qui a vu ce même phénomène, l'attribue à une résistance spéciale de cette présure à la chaleur; elle se rapprocherait ainsi, d'après cet auteur, des présures végétales.

ETUDE COMPARÉE DES PRÉSURES HANSEN, PEPTIQUE, PANCRÉATIQUE DE *Maja* AU POINT DE VUE DE LEUR VITESSE DE COAGULATION DU LAIT CHAUFFÉ

EXPÉRIENCES

Même dispositif expérimental que précédemment, bain-marie à 40°, 55°, 60°, 65°, 70°, 80°, contenant une série de tubes à essais avec 10 centimètres cubes de lait frais. On mesure l'action présurante de diverses solutions obtenues en dissolvant 0 gr. 050 de présure HANSEN dans 10 centimètres cubes d'H²O, de pepsine (1 gramme dans 10 centimètres cubes), de pancréatine (1 gramme dans 10 centimètres cubes). Ces expériences sont faites par comparaison avec 0 cc. 1 de suc digestif de *Maja* et 0 cc. 5 de macéré hépato-pancréatique du même animal ou encore avec des macérés de cæcum d'Astérie.

(1) GERBER, La présure des Crustacés décapodes. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1908, p. 708.

TABEAU XXIII

	40°	55°	60°	65°	70°	80°	88°
Présure HANSEN....	4'	—	—	—	—	—	—
Présure peptique..	4'	—	—	—	—	—	—
Présure pancréat..	18'	6'	4'	2'30"	—	—	—
Suc de <i>Maja</i>	2'	4'	30"	20"	15"	Instant.	—
Macéré hépto-pan- créatique de <i>Maja</i>	18'	8'	4	3'	2'30"	—	—
Macérés de cæcums d' <i>Astérie</i>	7'	3'	2'30"	2'15"	2'	—	—

Le Tableau XXIII montre que la présure HANSEN et la présure peptique sont impuissantes à coaguler le lait chauffé à 55°. La pancréatine est encore active à 65°. Le même phénomène se manifeste encore nettement à 70° pour les présures de *Maja* et d'*Astérias*. A 80° il est instantané. Le parallélisme d'action des présures pancréatiques de *Maja* et d'*Astérias* jusqu'à 65° doit être remarqué.

ACTION COMPARÉE DE LA CHALEUR SUR DES PRÉSURES D'ORIGINES DIVERSES

EXPÉRIENCES

On chauffe pendant une demi-heure en tube scellé à 60°, 62°, 70°, 72°, 80°, des solutions de diverses présures (HANSEN, pepsine, pancréatine) ainsi que du suc digestif de *Maja*. On les fait alors agir sur 10 centimètres cubes de lait chauffé à 40° et calcifié à 5 grammes pour 1.000, afin de faciliter la coagulation. Des expériences témoins sont faites avec des solutions non chauffées des mêmes ferments.

Le Tableau XXIV montre que la présure peptique est plus résistante que les autres à l'action de la température. Ce fait a déjà été signalé par BANG (*loc. cit.*). Une comparaison des expé-

TABLEAU XXIV

PRÉSURES diverses	Suc normal (Témoin)		Chauffé à 60°-62°		Chauffé à 70°-72°		Chauffé à 80°	
	Dose	Temps de coagu- lation	Dose	Temps de coagu- lation	Dose	Temps de coagu- lation	Dose	Temps de coagu- lation
Présure HANSEN 0,050 in 10 cc..								
H ² O	0,1	1'	0,5	50'	0,5	Néant	0,5	Néant
Présure peptique 1 gr. in 10 cc..								
H ² O	0,5	1'	—	1'	—	5'	—	Néant
Présure pancréat. 1 gr. in 10 cc..								
H ² O	0,1	11'	—	20'	—	Néant	—	Néant
Suc digestif de <i>Maja</i>	0,05	1'	—	5'	—	Néant	—	Néant
Macéréhépatopan- créatique <i>Maja</i>	0,5	20'		28'	—	Néant		

riences relatées au Tableau XXIII et au Tableau XXIV montre qu'il n'y a pas de corrélation entre l'optimum du phénomène coagulant et la résistance du ferment à la chaleur, car la pepsine ne coagule pas le lait chauffé à 60°. On voit encore que la présure des Crustacés et la pancréatine ont une action sensiblement parallèle jusque vers 65°; mais tandis que cette dernière est inactive à une température plus élevée, la première coagule instantanément du lait à 80°.

ACTION DE LA PRÉSURE DE *Maja* SUR LE LAIT ACIDIFIÉ PAR L'ACIDE CHLORHYDRIQUE

EXPÉRIENCES

On acidifie du lait frais à 1 pour 1.000 environ avec HCl; on fait agir sur 10 centimètres cubes au bain-marie à 40° des quantités varia-

bles de suc digestif de *Maja*. La même expérience est faite avec du lait normal. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

QUANTITÉ DE SUC		TEMPS DE COAGULATION	
		Lait normal	Lait acidifié
Suc dilué au 1/40....	I goutte	80'	pas de coagulation
Suc dilué au 1/10....	I goutte	22'	pas de coagulation
Suc normal.....	I goutte	5'	3'
Suc normal.....	V gouttes	digestion sans coagulation	1'

On voit que l'acidification du lait, retardatrice de la coagulation pour les doses faibles, est au contraire accélératrice pour les doses plus fortes.

ACTION DE DIVERSES PRÉSURES SUR LE LAIT SENSIBILISÉ PAR LE BARBOTAGE DE L'ACIDE CARBONIQUE

Le barbotage du lait par l'acide carbonique active beaucoup sa coagulation par la présure ordinaire ou la parachymosine (présure peptique) (1) ; l'effet est, au contraire, nul ou insignifiant sur le phénomène présurant de la pancréatine ou du suc de *Maja*.

EXPÉRIENCES

		TEMPS DE COAGULATION A 40°	
		Lait normal	Lait barboté par CO ²
Pancréatine (solution, 1 gr. in 10 cc.)	I goutte	15'	12'
Suc digestif de <i>Maja</i> (dilué au 1/10).	I goutte	15'	14'
Présure HANSEN (0 gr. 050 in 10 cc.)..	I goutte	60'	16'
Pepsine (solution, 1 gr. in 10 cc.) . . .	I goutte	pas de coagulation	3'

(1) BRIOT, Etudes sur le Labferment des solutions de pepsine ou parachymosine, *Journal de physiologie et pathologie générales*, 1907, p. 785.

COAGULATION DU LAIT NORMAL PAR DIVERSES PRÉSURES PRÉALABLEMENT SOUMISES A L'INFLUENCE DE L'ACIDE OU DE L'ALCALI

Ces expériences consistent à acidifier et à alcaliniser directement la solution de présure. Au bout d'un certain temps, on ramène à la neutralité. On mesure alors le pouvoir coagulant par rapport à un témoin.

Voici des expériences faites avec des solutions de pepsine, de pancréatine et de présure HANSEN, par comparaison avec du suc digestif de *Maja*.

EXPÉRIENCES

On dissout dans 10 centimètres cubes d'eau distillée : 1° 1 gramme de pepsine titre 100 ; 2° 1 gramme de pancréatine titre 100 ; 3° 0 gr. 250 de présure HANSEN. On prend 10 centimètres cubes de chacune de ces solutions, on les additionne de 0 cc. 8 $\text{HCl} \frac{\text{N}}{2}$ + 0 cc. 2 H^2O , le volume est de 2 centimètres cubes, la réaction est acide. On prend également 1 centimètre cube de chaque solution, on les additionne de 1 centimètre cube H^2O ; le volume est de 2 centimètres cubes, la réaction est neutre.

On alcalinise 1 centimètre cube de chaque solution par addition de 0,8 $\text{CO}^3\text{Na}^2 \frac{\text{N}}{2}$ plus 0,2 H^2O . Le volume est de 2 centimètres cubes, la réaction est alcaline. Après séjour de vingt-quatre heures à 40°, on neutralise exactement chaque tube, les volumes étant maintenus constants par addition d'eau distillée. On mesure l'action présurante sur 10 centimètres cubes de lait.

	Volume de solution mis en expérience	TEMPS DE COAGULATION		
		Solution acide	Solution témoin	Solution alcaline
Solution de pepsine.	0 cc. 5	20'	4'	Néant
Solution de pancréatine.	0 cc. 5	40'	5'	20'
Présure HANSEN.	0 cc. 5	2'	1'	Néant
Suc digestif de <i>Maja</i>	0 cc. 5	Néant	3'	4'

Il y a donc une différence très nette entre la présure de *Maja* et la présure pancréatique d'une part, la présure HANSEN et la présure peptique d'autre part. Les premières ont été peu influencées par le milieu alcalin ; les secondes, au contraire, y ont été anéanties. Le milieu acide a produit un effet inverse.

Ces faits prouvent que la présure de Maja doit être rangée à côté de la présure pancréatique.

III

Sur l'identité du ferment protéolytique et de la présure

Nous devons maintenant aborder la question de savoir si le phénomène protéolytique et le phénomène présurant, qui s'accompagnent toujours, sont tributaires du même ferment ou de deux ferments distincts. HAMMARSTEN a soutenu la dualité, tandis que PAWLOW et d'autres ont fourni de sérieux arguments en faveur de l'identité. Or, si cette dernière opinion est la vraie, la présure pancréatique se distinguera de la présure peptique par certaines propriétés, correspondantes à celles de la pepsine et de la trypsine. Les travaux nombreux publiés dans cette voie n'ont pas, à notre avis, suffisamment mis en évidence les caractères qui permettent d'établir cette distinction.

PAWLOW et PARASTCHUK (*loc. cit.*) constatèrent les premiers que le suc pancréatique pur non kinasé, protéolytiquement inactif, ne coagule pas le lait. Cependant, lorsqu'on l'additionne de suc intestinal, les deux phénomènes deviennent manifestes. D'autres expériences exécutées avec des sucs pancréatiques de diverses origines (suc de Chien à fistule permanente, obtenu dans des conditions différentes d'alimentation et étudié à diverses heures de la période de sécrétion; suc de Chien à fistule temporaire, obtenu par excitation du vague et du sympathique; suc de sécrétine, etc.) montrèrent un parallélisme constant entre les deux actions. Le phénomène présurant était mesuré par l'activité de 0 cc. 2 de suc pancréatique sur 10 centimètres cubes de lait acidifié (1 centimètre cube d'HCl à 0,5 pour 100). L'action protéolytique, par la longueur en millimètres d'albumine dissoute en tube de METTE.

En se plaçant dans diverses conditions expérimentales, PAWLOW et PARASTCHUK constatèrent, en outre, l'affaiblissement parallèle du ferment protéolytique et de la présure; ils conclurent à l'identité des deux ferments.

De son côté, VERNON (1) montra que la précipitation fractionnée de l'extrait pancréatique à l'aide de l'alcool modifiait également le pouvoir protéolytique et présurant, tandis que les autres diastases (amylase et lipase) étaient diversement influencées. Ces faits, en apportant un argument en faveur de l'identité, vérifiaient aussi l'indépendance physiologique des ferments du pancréas déjà démontrée par DASTRE (2).

SAWITSCH (3) arriva à des conclusions identiques en constatant l'affaiblissement parallèle de la trypsine et de la présure sous l'influence de la température.

DELEZENNE (4) a montré également que le suc pancréatique inactif acquiert, sous l'influence de faibles doses de calcium, le pouvoir protéolytique et labique. En opérant avec des sucs dialysés, cet auteur vit l'apparition simultanée des deux phénomènes. Dans d'autres conditions, il constata leur affaiblissement parallèle. Il conclut que « dans les conditions expérimentales indiquées, les sels de chaux nous apparaissent comme des agents activateurs rigoureusement spécifiques de la trypsine et du lab, lesquels d'ailleurs ne constituent peut-être, suivant la conception de PAWLOW, qu'un seul et même ferment. »

Contre cette théorie de l'identité nous trouvons l'opinion de GLASSNER (5), qui n'a pas trouvé de lab ferment dans le suc pancréatique humain. Ce fait serait important à retenir s'il était bien démontré, mais cet auteur n'a vraisemblablement pas opéré dans les conditions requises pour la manifestation du phénomène coagulant.

(1) VERNON, The precipitability of pancreatic ferments by alcohol, 1903 (Physiol. Lab., Oxford). *Journal of physiol.*, t. 29, p. 302-334.

(2) DASTRE, Contribution à l'étude des ferments du pancréas. *Arch. de physiol. norm. et pathol.*, 1893, t. 5, p. 774-777.

(3) SAWITSCH, Zur Frage nach der Identität der milchkoagulierenden und proteolytischen Fermente (Physiol. Lab. Inst. exp. med. Saint-Petersbourg) 1908. *Zeitschrift f. physiol. Chemie*, t. 53, p. 84-106.

(4) DELEZENNE, Formation d'un ferment lab dans le suc pancréatique soumis à l'action des sels de calcium. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1907, p. 98.

Sur la formation du lab pancréatique. Spécificité du calcium. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1907, p. 487.

Nouvelles observations sur la spécificité des sels de calcium dans la formation de la trypsine. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1907, p. 274.

(5) GLASSNER, Ueber menschliches Pankreassekret (Physiol. Inst. Berlin), 1904. *Zeitschrift für physiol. Chemie*, vol. 40, p. 463-479.

WOLGEMUTH (1), en effet, qui lui aussi a fait des expériences avec du suc pancréatique humain, décèle dans ce liquide le ferment lab. L'activation du suc par l'extrait intestinal ou par l'acide chlorhydrique faisait apparaître simultanément l'action présurante et l'action tryptique.

Recherches personnelles

Nos études chez les Invertébrés ne nous ont jamais permis de constater l'indépendance du ferment protéolytique et de la présure; nous avons toujours vu des activités correspondantes. Dans certaines expériences nous mesurons l'action coagulante par le temps que mettait la caséine à se prendre en masse, et la force protéolytique par celui que mettait le coagulum ainsi formé à disparaître. Ce procédé permet, entre autre avantage, de mesurer les deux processus dans des conditions rigoureusement identiques à l'aide de la même substance, la caséine. Ces expériences montrent que le coagulum disparaît dans un temps dix à douze fois environ plus considérable que celui qui est nécessaire à le produire.

Un macéré d'organe, par exemple, qui coagulait 10 centimètres cubes de lait en soixante minutes, dissolvait le coagulum dans douze heures environ. Une dose α de suc digestif qui coagulait 10 centimètres cubes de lait en cinq minutes, liquéfiait la caséine dans une heure, tandis que $\frac{\alpha}{2}$ réclamait dix minutes pour la formation du coagulum et deux heures pour sa liquéfaction.

D'autres expériences faites en mesurant l'activité protéolytique par le procédé de METTE nous ont fourni des résultats analogues. Ayant constaté que l'activité protéolytique du suc de *Cancer pagurus* est généralement plus faible que celle de *Maja squinado*, nous avons recherché s'il en était de même du pouvoir coagulant. Le parallélisme le plus parfait a toujours été trouvé entre les deux actions; l'expérience suivante le prouve :

On met 0 cc. 1 de suc digestif de *Cancer pagurus* dans un tube à essai contenant 10 centimètres cubes de lait. Le tout est placé au bain-marie à 40°. La coagulation se fait en vingt minu-

(1) WOLGEMUTH, Untersuchungen über den Pankreassaft des Menschen. Ueber das Labferment, 1907. *Bioch. Zeitschr.*, vol. 2, fas. 4-6, p. 330-336.

tes. Ce pouvoir présurant (exprimé par le volume de lait coagulé par 0,1 de suc en quarante minutes à 40 degrés) est, par conséquent, égal à 20. Le même suc digère 2 millimètres d'albumine du tube de METTE après vingt-quatre heures à 40°. Le pouvoir protéolytique (mesuré par la longueur d'albumine dissoute) est égal à 2. Le rapport entre le pouvoir coagulant et le pouvoir protéolytique est donc de $\frac{20}{2} = 10$.

Si maintenant on expérimente avec du suc de *Maja squinado* exactement dans les mêmes conditions, on constate que 10 centimètres cubes de lait sont coagulés en cinq minutes. Le pouvoir coagulant (exprimé par la quantité de lait coagulé par 0 cc. 1 à 40 degrés en quarante minutes) sera 80. Le même suc digère 8 millimètres d'albumine après vingt-quatre heures à 40°. Le pouvoir protéolytique est donc égal à 8. Ici encore le rapport du pouvoir coagulant au pouvoir protéolytique est égal à $\frac{80}{8} = 10$.

Voici des faits d'un autre ordre qui parlent dans le même sens.

Nous avons vu que le ferment protéolytique des Crustacés est relativement peu sensible à l'action de l'alcali (p. 49), celui des Céphalopodes, au contraire (p. 69), perd très rapidement ses propriétés en milieu alcalin. Or, la réaction chimique du milieu influence dans le même sens le ferment présurant de ces deux groupes d'animaux.

Ainsi, du suc digestif de *Maja* alcalinisé à divers titres par du CO_3Na^2 , laissé trois heures à 40°, ou vingt-quatre heures à 15° puis neutralisé, a conservé à la fois, quoique affaiblies, l'activité présurante et l'activité protéolytique. Celui des Céphalopodes, traité de la même manière, est devenu complètement inactif. Il ne peut ni coaguler le lait calcifié ni digérer la caséine.

D'autre part, d'après les expériences suivantes, réalisées avec du suc de *Maja*, l'acide ou l'alcali atténuent ou détruisent parallèlement la trypsine et la présure.

EXPÉRIENCES

Dans une série de tubes à essais, contenant le même volume de suc de *Maja* (0 cc. 5) on ajoute des doses variables d' HCl N/5 et de

TABLEAU XXV
RÉSUMANT LES PROPRIÉTÉS DE QUELQUES PRÉSURES ANIMALES PAR COMPARAISON AVEC CELLE DE *Maja*

FACTEURS DIVERS		Présure HANSEN	Présure peptique	Présure pancréatique	Présure de <i>Maja</i>
DOSES } variables	Faibles Fortes	Coagulation. Coagulation.	Pas de coagulation. Coagulation.	Coagulation. Pas de coagulation. Digestion rapide. Eclaircissement.	Coagulation. Pas de coagulation. Digestion rapide. Eclaircissement.
Loi d'action (à 40°).		Loi de proportionnalité.	Pas de loi nette.	Loi de proportionnalité (Doses faibles)	Loi de proportionnalité (Doses faibles)
Phénomènes consécutifs à la coagulation : a) Coagulum. b) Liquide exsudé.		Rétraction lente du coagulum, exsudation d'un sérum clair. Pas d'acido-acides.	Comme pour la présure HANSEN. Pas d'acido-acides.	Dissolution du coagulum avec formation d'un liquide louche. Présence d'acido-acides. Réaction du tryptophane positive.	Comme pour la présure pancréatique. Présence d'acido-acides. Réaction du tryptophane positive.
Température de destruction du ferment chauffé une demi-heure en tube scellé.		65°-70°	75 -80°	70 -75	70 -75°
Vitesse de coagulation du lait chauffé (Température optima de coagulation).		Température optima à 40°. Coagulation de plus en plus lente jusqu'à 55-60°.	Température optima à 40°. Coagulation de plus en plus lente jusqu'à 55-60°.	Température optima à 65°. Pas de coagulation pour des températures plus élevées.	Température optima à 75-80°. Pas de coagulation pour les températures plus élevées.
De la coagulation du lait sensibilisé: a) Lait acidifié. b) Lait + CO ₂ .		Accélération proportionnelle. Sensibilisation nette.	Accélération proportionnelle. Sensibilisation encore plus nette.	Phase retardatrice pour faible dose et accélératrice pour forte dose. Pas de sensibilisation.	Phase retardatrice pour faible dose et accélératrice pour forte dose. Pas de sensibilisation.
Sensibilité du ferment : 1° A l'acide. 2° A l'alcali.		Peu sensible. Sensible.	Peu sensible. Très sensible.	Sensible. Pas sensible.	Sensible. Pas sensible.

$\text{CO}^3\text{Na}^2 \text{ N/5}$. Après douze heures de contact à 45° , l'acide et l'alcali sont exactement neutralisés et les volumes rendus égaux par addition de solution physiologique de NaCl . Dans chaque tube on mesure le pouvoir protéolytique par la méthode de METTE (après vingt-quatre heures à 40°) et le pouvoir coagulant en prélevant dans chacun des tubes 0 cc. 1 de suc que l'on fait agir sur 10 centimètres cubes de lait à 40° . Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Composition du liquide laissé 12 heures à 45° puis exactement neutralisé	Réaction	Temps de coagul. de 10 cc. de lait + 0 cc 1 de suc	Pouvoir pro- téol. en millim. d'albumine dissous après 12 h. à 40°
0 cc. 5 suc <i>Maja</i> +			
— 0,3 HCl N/2 + 0,2 H^2O	2,49 } HCl	Néant	Néant
— 0,1 HCl N/5 + 0,4 H^2O	0,75 } $^\circ/\text{oo}$	35'	2,8
— 0,0 + 0,5 H^2O	0,00	12'	10,5
— 0,3 $\text{CO}^3\text{Na}^2 \text{ N/5}$ + 0,2 H^2O	3,43 } CO^3Na^2	13'	10
— 0,5 $\text{CO}^3\text{Na}^2 \text{ N/5}$ + 0,0 H^2O	5,25 } $^\circ/\text{oo}$	20'	5

L'activité protéolytique et l'activité coagulante ont donc été affaiblies dans le même sens, soit par l'acide, soit par l'alcali.

Signalons enfin que la température de destruction de ces deux ferments se produit à la même température, vers 72° .

En résumé, tous ces faits montrent que la diastase tryptique et la présure des Invertébrés doivent être envisagées comme un seul et même ferment.

CHAPITRE VII

Destination des produits de la digestion protéolytique Leur présence dans le foie

De nombreux auteurs ont montré l'importance de l'hétopancréas des Invertébrés comme organe digestif. Son rôle d'organe de réserve du fer, de la graisse, du glycogène et parfois de phosphate de calcium est également bien établi. Mais la présence d'acides aminés n'y avait point encore été démontrée d'une façon précise, bien que sa fonction absorbante ait été signalée chez les Mollusques gastéropodes par CUÉNOT (1), BIEDERMANN et MORITZ (2), ENRIQUES (3); chez les Céphalopodes par CUÉNOT; chez les Crustacés par SAINT-HILAIRE (4), CUÉNOT, JORDAN (5); chez les Lamellibranches par LIST (6). Enfin CHAPEAUX (7) a signalé un rôle

(1) CUÉNOT, La fonction excrétrice du foie des Gastéropodes pulmonés. *Arch. de zool. expér.* [3], VII, *Notes et Revue*, p. 25.

Etude physiologique sur les Gastéropodes pulmonés. *Archives de Biologie*, XII, p. 683.

Etude physiologique sur les Crustacés décapodes. *Archives de Biologie*, XIII, p. 243.

Fonctions absorbante et excrétrice du foie des Céphalopodes. *Arch. de zool. expér. et génér.*, IV^e série, 1907, t. VII, p. 227 à 243.

(2) BIEDERMANN et MORITZ, Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. III. Ueber die Function der sogenannten « Leber » der Mollusken. *Archiv für die ges. Physiol.*, LXXV, p. 1.

(3) ENRIQUES, Il fegato dei Molluschi et le sue funzioni. Ricerche prevalentemente microscopiche. *Monit. zool. Stat. Neapel*, XV, p. 281.

(4) SAINT-HILAIRE, Sur la résorption chez l'Ecrevisse. *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique* [3], XXIV, p. 506.

(5) JORDAN, Die Functionen der sogen. Leber bei *Astacus fluviatilis*. *Verhandl. der deutsch. zool. Gesells.*, 12^e Versamml., p. 183.

(6) LIST, Die Mytiliden. *Fauna und Flora des Golfes von Neapel*. XXVII^e Monog.

(7) CHAPEAUX, Sur la nutrition des Echinodermes. *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique* [3], XXVI, p. 227.

absorbant des cæcums radiaires de l'Astérie. « On voit donc, dit CUÉNOT, que chez tous les Invertébrés pourvus d'un foie ou d'un organe analogue, les produits solubles et dialysables de la digestion passent à travers son épithélium; la graisse seule est parfois absorbée à une autre place, par l'épithélium du segment intestinal qui suit immédiatement le foie (Céphalopodes, Nudibranches, Crustacés décapodes). »

D'autres recherches ont démontré que des particules alimentaires solides pouvaient être directement absorbées par les cellules hépatiques; BIEDERMANN et MORITZ l'admettent chez *Helix*; LIST a la même opinion sur *Mytilus*, et ENRIQUES sur *Aplysia* et sur *Limnæa*.

Ce dernier auteur a même vu des cellules végétales entières incluses dans l'épithélium hépatique. De même LIST (*Loc. cit.*), en faisant ingérer de l'encre à des Moules, retrouva des particules de noir dans les cellules du foie. DASTRE (1), d'un autre côté, a trouvé dans le foie de plusieurs Mollusques lamellibranches et gastéropodes un pigment chlorophylloïde, soluble dans l'alcool-chloroforme, donnant un spectre à quatre bandes analogue à celui de la chlorophylle; c'est l'entéro-chlorophylle de MAC-MUNN, l'hépatochlorophylle de DASTRE et FLORESCO (2). Ce pigment est, sans aucun doute, d'origine alimentaire, car il n'existe pas chez les Invertébrés carnivores et il disparaît quand on supprime l'alimentation chlorophyllée pendant un temps suffisant.

ENRIQUES a vu au microscope l'absorption phagocytaire des grains verts et bruns qui remplissent les cellules du foie d'*Aplysia depilans*. Le contenu de ces mêmes cellules est parfaitement incolore chez les animaux à jeun depuis dix à quinze jours. Mais si l'animal mange de nouveau des matières vertes, les cellules hépatiques augmentent de volume et l'on y retrouve des chloroplastes d'abord verts, puis bruns. L'imprégnation de ces cellules par les substances alimentaires chlorophylliennes est donc évidente. Quant à la destination ultérieure de ces dernières, les opinions sont différentes. ENRIQUES pense qu'il y a vraisemblablement utilisation par digestion endo-cellulaire.

(1) DASTRE, La chlorophylle du foie chez les Mollusques. *Journal de physiol. et pathol. générales*, t. 1, p. III.

(2) DASTRE ET FLORESCO, Pigments du foie en général. II. Pigments hépatiques chez les Invertébrés. *Archives de physiologie* [5], p. 289.

DASTRE croit, au contraire, que ces substances sont éliminées par l'intestin.

Tous ces faits permettent de penser que l'imprégnation des cellules hépatiques des Invertébrés par les produits de digestion est un fait d'ordre général.

D'ailleurs, la littérature fournit un certain nombre de documents qui appuient cette opinion.

J. FRENZEL (1), en effet, a signalé la présence de leucine et de tyrosine dans le foie des Crustacés. DOHRN (2) a également vu la leucine dans le foie d'*Astacus* et aussi une substance qu'il a désignée sous le nom d'« Astacin », non identique à la tyrosine mais qui s'en rapprocherait beaucoup par sa composition élémentaire et ses propriétés chimiques. Ces résultats ont été précisés par COHNHEIM (3) dans un important travail sur la composition chimique de l'extrait aqueux de foie du Poulpe ; il y a vu une notable quantité d'albumine précipitable par l'acide acétique à chaud. Le filtrat, qui contient peu d'albumoses (faible précipité par le sulfate d'ammoniaque à saturation), donne, par contre, une forte réaction du biuret, ce qui indique la présence de peptones vraies. L'auteur s'en débarrasse en les précipitant par l'acide phosphotungstique, mais il constate par la réaction de MILLON que le filtrat contient encore une notable quantité d'azote, et COHNHEIM a pu y déceler des cristaux de leucine.

Le Tableau XXVI reproduit à titre documentaire ces intéressants résultats. L'auteur conclut en disant sa surprise, étant donné ce qu'on sait des Vertébrés, que plus de la moitié de l'azote du foie de Poulpe (extrait aqueux fait extemporanément) ne soit pas de l'albumine coagulable ; une partie se composerait de peptones, l'autre appartiendrait sans aucun doute à des produits cristallisés provenant de l'albumine (leucine, tyrosine).

Enfin CUÉNOT a constaté dans l'épithélium hépatique de *Sepia officinalis* qu'« un grand nombre de cellules, mais pas toutes,

(1) J. FRENZEL, Ueber die Mitteldarmsdrüse der Crustaceen. *Mittheil. der zool. Station zu Neapel*, t. 3, 1884, p. 50-101.

(2) DOHRN, *Analecta ad historiam naturalem Astaci fluviatilis*. Diss. Berlin, 1861 (d'après Otto von FÜRTH).

(3) COHNHEIM, Weitere Mittheilungen über Eiweissresorption (*Zool. Stat. Neapel u. Physiol. Inst. Heidelberg*). *Zeitschrift für physiol. Chemie*, vol. 33, p. 396-415.

TABLEAU XXVI

cent. c.	N total		N albumine		N non albumine		N non précipitable par l'acide phosphotungstique		
	grammes		grammes	%	grammes	%	grammes	%	
580	4,359		0,606	44,6	0,757	55,7	—	—	4 foies 2 gros foies d'Octop. 3 foies
670	—		2,899	46,9	3,287	53,1	0,751	42,4	
360	0,948		0,444	46,9	0,489	51,6	0,192	20,2	
Le même après 17 jours	0,893		0,343	38,4	0,549	61,5	0,307	34,4	

présentent vers le sommet une vacuole, presque entièrement remplie par un magma irrégulier, de couleur jaune, renfermant des granules incolores, jaunes ou rougeâtres et de grands cristaux, en aiguille, isolés ou groupés, qui rappellent beaucoup par leur forme des cristaux de tyrosine. »

Recherches personnelles

Nous avons vu dans le Chapitre III que les sucs digestifs des Invertébrés transforment les matières albuminoïdes en corps aminés; d'autre part, les faits qui viennent d'être rappelés montrent que leur foie absorbe les produits digestifs et qu'il contient même quelquefois de la leucine et de la tyrosine. Il restait donc à faire une étude plus approfondie de cette nouvelle fonction de réserve.

La technique utilisée est analogue à celle dont s'est déjà servi H. DELAUNAY (1) pour ses recherches sur l'azote titrable au formol dans les tissus. Elle consiste à doser d'abord l'azote total par la méthode de KJELDHAL, dans un poids déterminé de tissus, puis celui qui est titrable au formol.

Voici comment nous avons opéré :

1° *Dosage de l'azote total.* — 1 gramme de tissus frais est introduit dans un ballon de KJELDHAL, additionné de 5 centimè-

(1) DELAUNAY, Rôle des acides aminés dans l'organisme animal. Thèse de la Faculté de médecine de Bordeaux, 1910.

tres cubes d'oxalate neutre de potasse à 30 pour 100, puis de 5 centimètres cubes d'acide sulfurique pur. On transforme en sulfate d'ammoniaque; après dissolution, on neutralise exactement. Dans le liquide ainsi neutralisé, on ajoute du formol neutre en excès pour titrer avec NaOH N/5 l'acidité qui prend naissance.

Soit n le nombre de centimètres cubes de soude employé, le nombre de milligrammes d'azote total (pour 100 grammes de tissu frais) sera : $n \times 2,8 \times 100$.

2° *Dosage de l'azote titrable au formol* (amino-acides, plus ammoniaque). — 1 gramme de tissu est broyé dans un mortier avec du sable lavé et un peu d'eau distillée. Le tout est versé dans un vase à saturation, puis neutralisé par NaOH N/5 jusqu'à coloration très faible, en présence de phtaléine du phénol.

Soit n le nombre lu à la burette, il correspond à l'acidité directe. On ajoute 10 centimètres cubes de formol neutre. La coloration rose disparaît. Pour la faire reparaitre, il faut ajouter une quantité n' de soude N/5. Cette acidité décelée par le formol est due, comme on sait, aux acides aminés et à des corps ammoniacaux.

Quant à l'acidité directe, elle est due à plusieurs facteurs; une grande partie peut être attribuée aux amino-acides et l'autre à des éléments contenus habituellement dans les tissus, tels l'acide carbonique, l'acide lactique et divers sels à fonctions acides, etc. Le virage à la phtaléine peut, en outre, être perturbé par la présence d'ammoniaque dans le tissu étudié.

Quoi qu'il en soit, les amino-acides et l'ammoniaque forment toute l'acidité après formol et une grande partie (difficile d'ailleurs à déterminer) de l'acidité directe. Cette dernière, plus faible que l'acidité après formol, lui est toujours proportionnelle. Par suite, si l'on transforme en milligrammes d'azote l'acidité après formol d'une part et l'acidité totale d'autre part, on obtient deux chiffres, dont l'un représente l'azote aminé (chiffre faible N formol minimum) et l'autre plus fort (N formol maximum), puisque l'acidité due aux amino-acides est comprise entre l'acidité après formol et l'acidité totale. Les deux chiffres, d'ailleurs assez voisins, donnent une valeur suffisamment approchée de la teneur des tissus en amino-acides.

Calcul :

n = NaOH N/5 saturant l'acidité directe.

n' = NaOH N/5 saturant l'acidité après formol.

$n + n'$ = NaOH N/5 saturant l'acidité totale.

Milligr. d'azote ($\text{NH}^3 + \text{NH}^3$) maximum = $n + n' \times 2,8 \times 100$.

Milligr. d'azote ($\text{NH}^3 + \text{NH}^3$) minimum = $n' \times 2,8 \times 100$.

3° *Azote ammoniacal.* — Pour doser rigoureusement et uniquement l'ammoniaque contenue dans les tissus, sans toucher à l'azote aminé, nous avons employé la technique de GRAFE : 20 à 30 grammes de tissus sont broyés dans un mortier avec de l'eau distillée et du sable lavé. Le tout est introduit dans un ballon avec 50 centimètres cubes de solution de NaCl saturée à froid, plus 50 centimètres cubes de solution de CO_2Na^2 également saturée à froid, plus 50 centimètres cubes d'alcool. La distillation de l'ammoniaque est effectuée sous une pression de 20 millimètres de mercure à 38°-40° pendant quatre heures.

L'appareil dont nous nous sommes servi est à peu près celui qu'employèrent KRÜGER et REICHE pour le dosage de l'ammoniaque dans l'urine. L'indicateur employé a été le Lakmoïd Malachitgrün de NENKI et ZALESKI.

Calcul :

Soit par exemple n centimètres cubes de SO^4H^2 N/5, neutralisé par l'ammoniaque qui s'est dégagée de 25 grammes de tissus.

Milligr. N ammoniacal pour 100 grammes de tissus = $n \times 2,8 \times 4$.

Les résultats obtenus sont consignés dans le Tableau XXVII et sur les graphiques ci-contre. Ils sont relatifs :

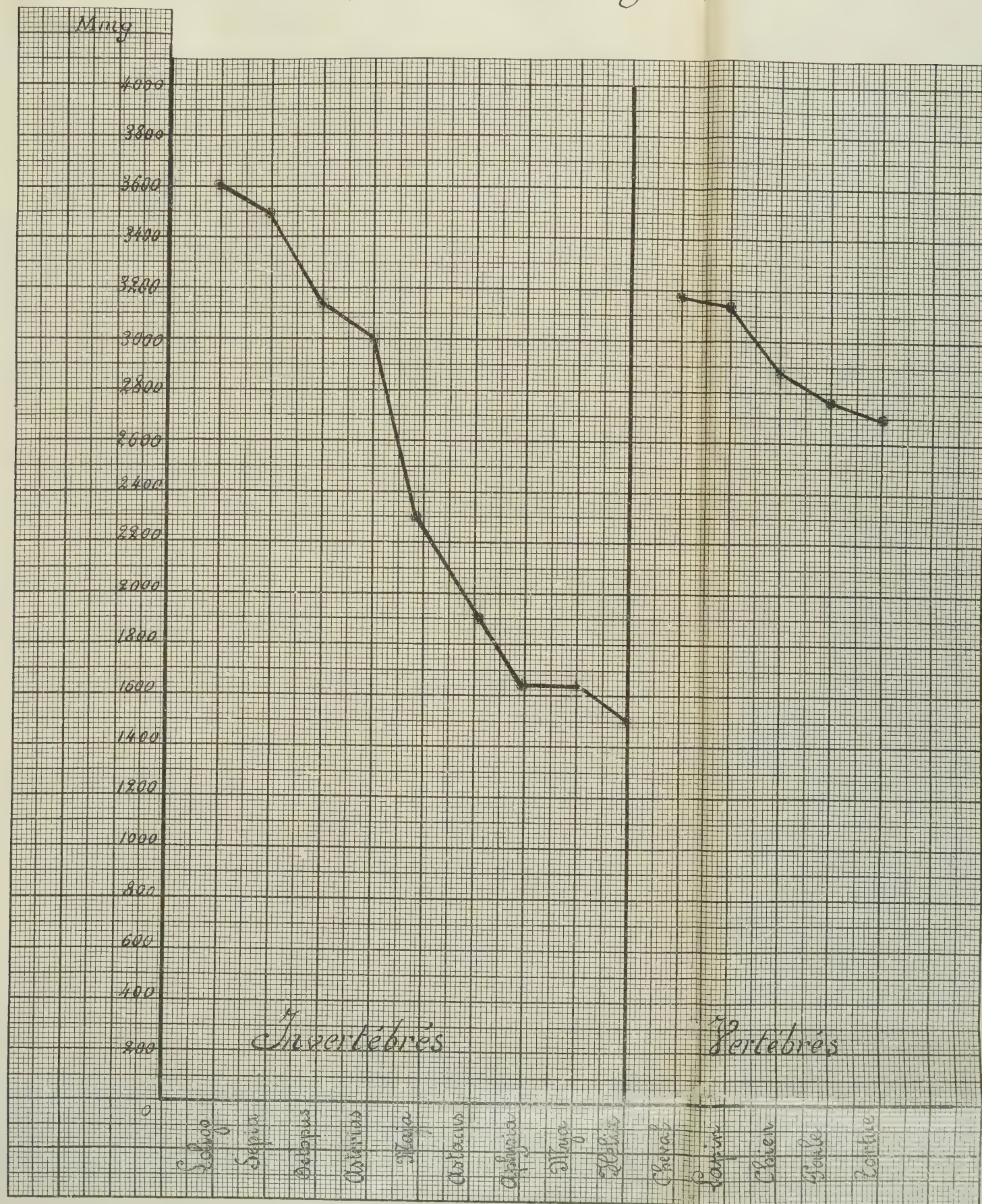
1° *A l'azote total du tissu hépatique (Graphique 6).*

On voit que les chiffres exprimant les milligrammes d'azote de 100 grammes de foie varient de 1.300 à 3.600, selon les types d'Invertébrés étudiés. Une étude comparative chez les Vertébrés montre une constance beaucoup plus grande de la teneur azotée.

2° *A l'azote titrable au formol du tissu hépatique (Graphiques 7 et 8).*

Il existe donc un parallélisme évident entre l'azote titrable au formol (chiffre minimum) et l'azote titrable au formol (chiffre maximum). On constate encore, chez les divers types d'Invertébrés, des variations de N total de 10 à 18 % pour 100 gram-

N°6. — N. Total pour 100 Grammes de Tissu frais de Foie



TABEAU XXVII

ESPÈCES ANIMALES	N total (1) mmg.	N Formol (1) mmg.		NH ³ (1) mmg.	Rapport pour 100 de N total	
		Minimum	Maximum		N Formol Minimum	NH ³
VERTÉBRÉS						
Chien	2660	168	210	12	6,4	0,46
Chien	2500	196	238	12	7,9	0,46
Cheval	2968	182	252	10	6,2	0,34
Lapin	2958	168	252	10	5,8	0,33
Poule	2576	182	224	16	7,0	0,64
Tortue	2492	168	196		6,3	—
Torpille	2036	168	224	12	8,4	0,6
INVERTÉBRÉS (2)						
<i>Octopus</i>	3136	540	736	20	17,4	0,64
<i>Sepia</i>	3448	506	652	17	14,8	0,50
<i>Loligo</i>	3596	639	784	—	18,2	—
<i>Maja squinado</i>	2240	392	560	14	17,8	0,63
<i>Astacus</i>	1972	319	377	12	16,0	0,60
<i>Asterias rubens</i>	3032	434	532	11,8	14,8	0,40
<i>Helix</i>	1540	154	210	9	10,0	0,60
<i>Aplysia</i>	1682	232	319	14	13,6	0,82

(1) Pour 100 grammes de tissu frais.
(2) Résultats obtenus en collaboration avec M. le D^r DELAUNAY à la Station Biologique d'Arcachon.

mes de tissus frais. Chez les Vertébrés, au contraire, dont le foie ne contient d'ailleurs qu'une faible quantité d'azote titrable au formol, la teneur azotée varie peu.

3° A l'ammoniaque (*Graphiques 7 et 8*).

Chez les Invertébrés comme chez les Vertébrés, l'ammoniaque varie, pour 100 grammes de tissu hépatique, entre 10 et 20 milligrammes (*Graphique 7*). Le rapport de ces chiffres pour 100 de N total est compris entre 0,2 et 1 (*Graphique 8*). C'est donc une quantité insignifiante, et l'on peut attribuer aux acides

aminés la presque totalité de l'azote titrable au formol du tissu hépatique.

Si l'on considère les rapports entre la constitution azotée du foie et l'alimentation dans la série animale, on voit qu'il y a un parallélisme manifeste chez les Invertébrés.

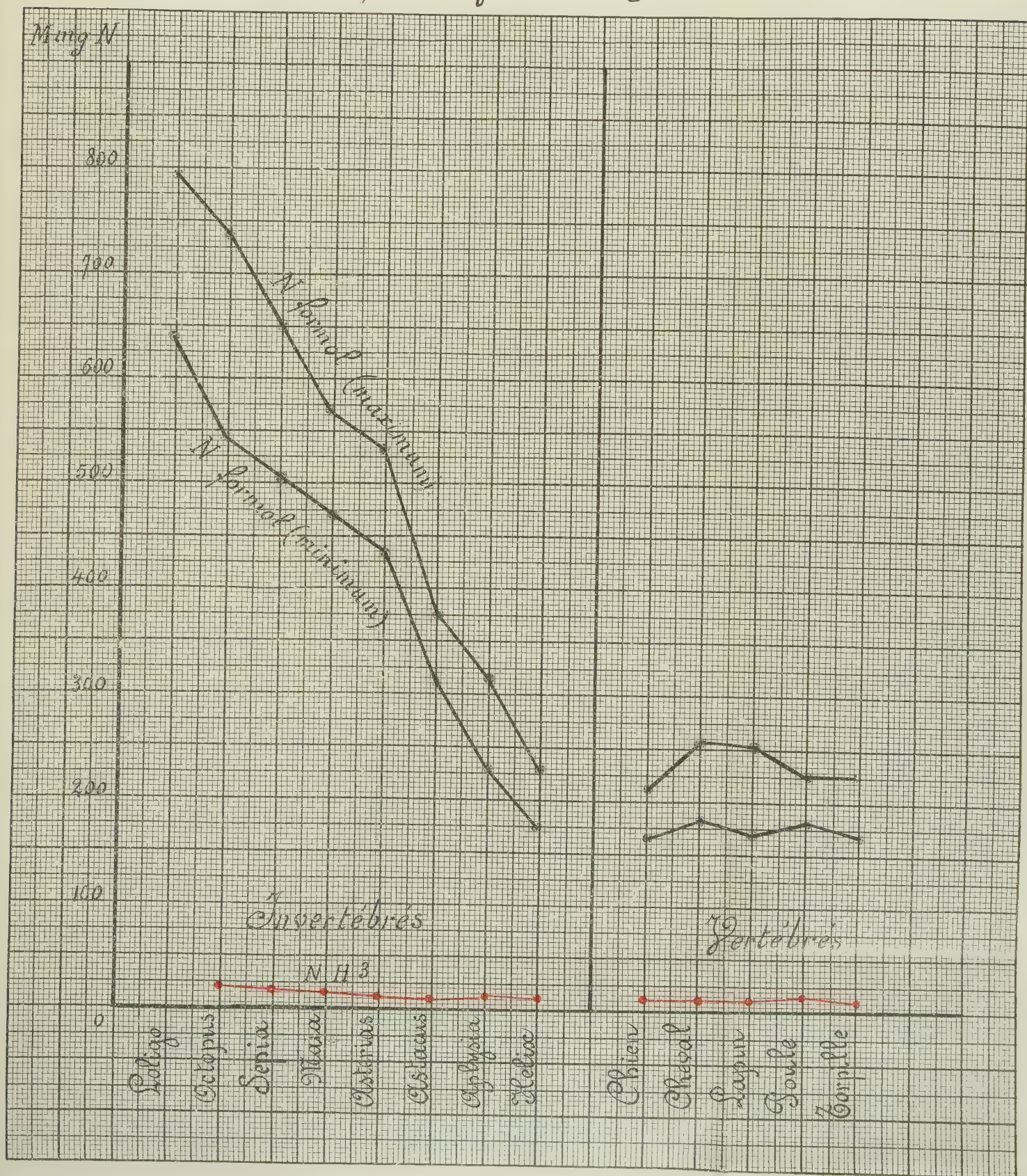
Le foie des Herbivores (*Helix*, *Aplysia*) est le moins riche. Celui des Carnivores (*Maja*, *Asterias*, *Octopus*, *Loligo*) est au contraire au sommet de l'échelle.

Ces résultats se distinguent de ceux fournis par divers types de Vertébrés (Chien, Cheval, Lapin, Poule, Torpille) où la teneur en substances azotées, exprimée soit en azote total, soit en azote titrable au formol, est à peu près la même.

En résumé, le foie des Invertébrés est d'autant plus riche en azote total et en amino-acides que leur alimentation est plus riche en matières albuminoïdes. Cela permet de penser qu'il retient les produits de la digestion protéolytique (amino-acides) (1). On sait, d'autre part, que la glande hépatique de la plupart d'entre eux ne contient pas de glycogène (Céphalopodes). La question entièrement neuve qui se pose maintenant est de déterminer l'utilisation physiologique de ces corps de réserve ; mais elle dépasse le cadre de ce travail.

(1) Ces corps existent dans les tissus frais et ne sont pas des formations *post mortem*, comme l'avait supposé Otto von FÜRTH, *Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere*, p. 234.

N° 7. — N titrable au formol (minimum et maximum)
et NH^3 pour 100 gr. de tissu frais de Foie



N°8 - Rapport pour 100 de N total
de N formol minimum et de NH^3

100
20
19
18
17
16
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0

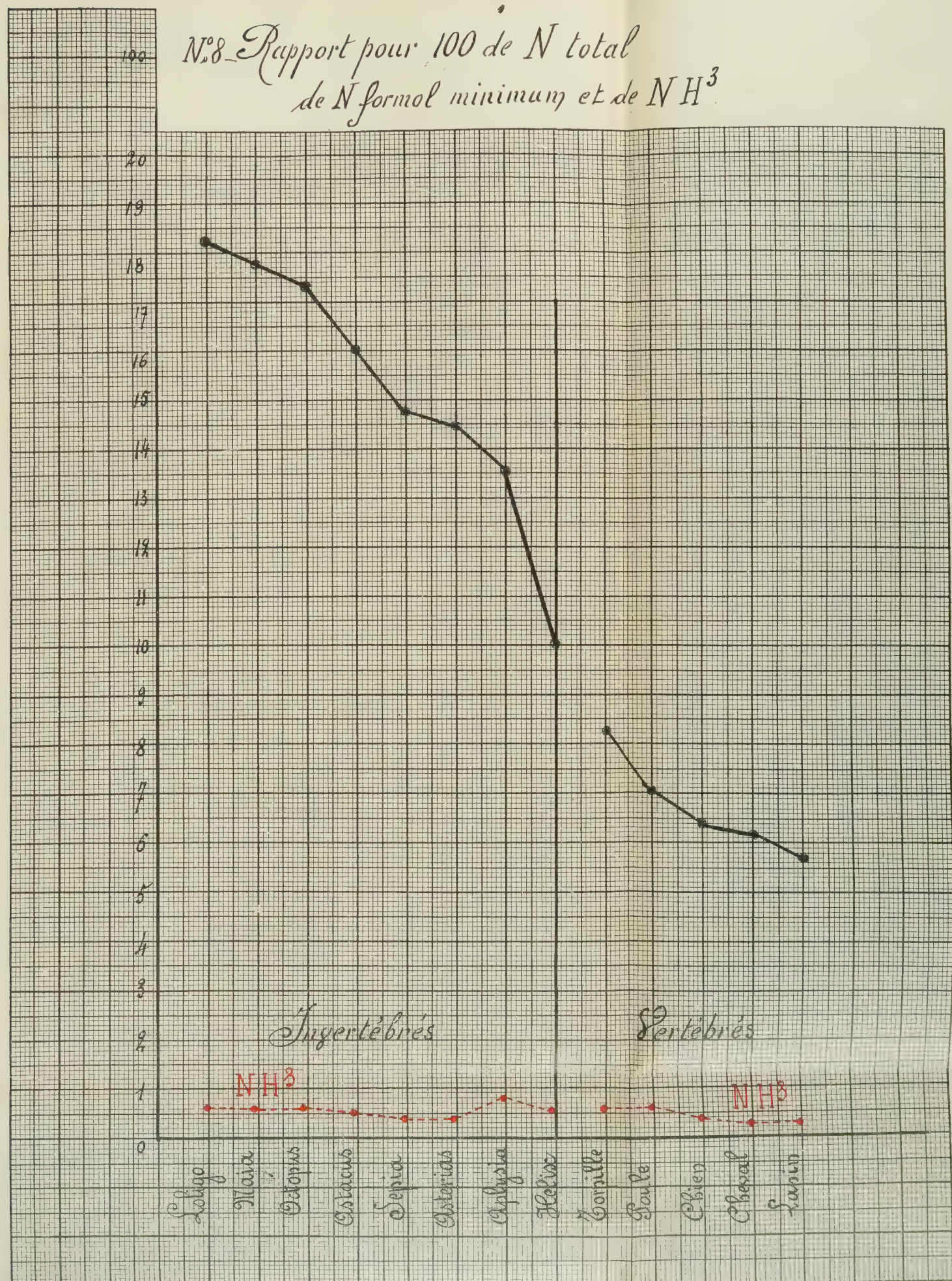
Invertébrés

Vertébrés

NH^3

NH^3

Loligo
Moule
Octopus
Cetaceus
Sepia
Cetorhinus
Aplysia
Helix
Cornille
Boule
Chien
Cheval
Lainin



RÉSUMÉ GÉNÉRAL ET CONCLUSIONS

Dans le Chapitre I, nous exposons la technique utilisée pour nos recherches ; entre autres avantages, elle présente celui de permettre de suivre pas à pas la transformation de la matière albuminoïde au cours des divers processus protéolytiques.

Dans le Chapitre II, après avoir rappelé les caractères distinctifs de la pepsine, de la trypsine et de l'érepsine, nous exposons un certain nombre d'expériences personnelles qui amènent à conclure que la pepsine et la trypsine se différencient par trois caractères :

1° *Par le milieu d'action.* — La pepsine agit seulement en présence d'une acidité notable ; l'intensité de la digestion augmente jusqu'à une certaine limite quand on élève la teneur du milieu en acide.

2° *Par les variations de l'acidité au cours de la protéolyse « in vitro ».* — Dans les liquides de digestion peptique, l'acidité forte diminue et l'acidité faible augmente. L'acidité après formol reste invariable.

Dans les liquides de digestion pancréatique, il y a augmentation progressive et parallèle de l'acidité directe et après formol, cette dernière étant due à la libération d'acides-amino.

3° *Par le processus d'action.* — La pepsine est un ferment peptonisant et non éreptique. La trypsine possède la double propriété de peptoniser et de transformer les substances protéiques en acides-amino. Au cours des digestions *in vitro*, l'activité peptonisante et l'activité éreptique sont sensiblement égales.

Le Chapitre III est consacré à l'étude de la réaction chimique des sucs digestifs des Invertébrés ; nous concluons que la plupart d'entre eux sont habituellement neutres ou peu acides.

Dans tous les cas, et contrairement à l'opinion de plusieurs auteurs, leur acidité paraît insuffisante pour permettre l'action peptique. Chez certains, tels que *Maja* et *Cancer* parmi les Crustacés décapodes, *Sepia* et *Loligo* parmi les Mollusques céphalopodes (suc du cæcum spiral), cette acidité est manifestement due aux amino-acides.

L'hydrolyse des matières protéiques, sous l'influence de sucs divers (Crustacés, Céphalopodes, Gastéropodes, Aphroditien), est étudiée dans le Chapitre IV. Nous avons démontré que, en général, ils digèrent facilement la gélatine et la caséine, tandis que leur action est sensiblement moindre sur les sérums d'Invertébrés : ceci ne saurait surprendre puisque ces sérums renferment un agent antitryptique (SELLIER). La protéolyse, étudiée par le dosage respectif des albumoses et des peptones d'une part et des amino-acides d'autre part, s'est constamment effectuée, dans les conditions variées de nos expériences, selon le processus tryptique. Chez les Céphalopodes, cependant, le rapport entre la quantité de peptones libérée et le taux d'acides aminés formés est toujours plus élevé que chez les autres groupes d'Invertébrés ; leur activité éreptique est donc moindre. Leur cæcum contient à la fois du suc digestif et des acides aminés.

Les sucs digestifs et les macérés hépato-pancréatiques d'*Helix pomatia*, d'*Aplysia punctata*, d'*Aplysia fasciata* sont inactifs au point de vue protéolytique.

Dans le Chapitre V, nous avons démontré la présence de l'érepsine à l'aide de plusieurs méthodes (méthode de SÖRENSEN, peptones ROCHE, disparition de la réaction du biuret, réaction de l'eau bromée, réaction de la tyrosinase).

Nous sommes, en outre, arrivé aux résultats suivants : Le sang des Crustacés (*Maja*, *Cancer*), sur lequel agit le suc digestif du même animal, libère facilement de la tyrosine ; le noircissement du liquide de digestion, oxydé par la tyrosinase, le prouve.

Ce suc produit rapidement du tryptophane en agissant sur la caséine. Il transforme les peptones WITTE en corps abiurétiques. Il précipite facilement la tyrosine des peptones ROCHE.

Les résultats obtenus chez les Céphalopodes (*Sepia*, *Loligo*) sont du même ordre, mais avec quelques particularités. Ainsi, l'érepsine du suc de leur cæcum ne transforme pas complètement les peptones WITTE en corps abiurétiques, même après

huit jours de digestion à 40°. FALLOISE avait déjà signalé ce fait. Le tryptophane apparaît au contraire promptement dans le lait. Le sang des Crustacés brunit rapidement et devient même d'un noir foncé.

Le suc digestif des Vers (*Aphrodite aculeata*) présente les mêmes propriétés que celui des Crustacés.

Celui des Mollusques gastéropodes (*Helix*, *Aplysia*), soumis aux mêmes expériences, a constamment fourni des résultats négatifs.

D'autres recherches, poursuivies sur les tissus de divers Invertébrés, nous ont permis de constater que l'écrepsine existe seulement dans les sucs digestifs ou dans les extraits d'organes qui possèdent une action protéolytique.

Nous avons signalé antérieurement la présure chez plusieurs groupes d'Invertébrés. Notre Chapitre VI l'étudie en détail. Elle se rencontre dans tous les sucs ou extraits d'organes possédant un ferment à processus tryptique. En comparant celle de *Maja* à d'autres présures animales, nous arrivons à la conclusion qu'elle se rapproche de la présure pancréatique.

Enfin, en accord avec les données de PAWLOW, nous avons constaté que les actions protéolytique et présurante, bien que distinctes, paraissent être produites par un même ferment.

Le foie étant un organe absorbant, le Chapitre VII est relatif à la recherche et au dosage des produits azotés de la digestion, particulièrement des aminoacides, qui y sont contenus. Celui des Carnivores (*Asterias*, *Maja*, *Sepia*, *Octopus*, *Loligo*) est plus riche en acides aminés que celui des Herbivores (*Helix*, *Aplysia*) et leur présence paraît dépendre du genre d'alimentation ; elle semble aussi en rapport avec la fonction protéolytique, puisque cette dernière manque chez *Helix* et *Aplysia*.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	1
CHAPITRE PREMIER. — Mesure des processus protéolytiques.....	7
Dosage de N^1	10
Dosage de $(N^2 + N^3)$	12
Dosage de N^3	13
Lecture des tableaux d'expériences.....	16
CHAPITRE II. — Pepsine, Trypsine, Erepsine.....	19
1° Rapport entre la quantité de substances protéiques et les divers facteurs de l'acidité	23
2° Variations de l'acidité au cours des processus digestifs ...	24
CHAPITRE III. — Réaction des suc digestifs des Invertébrés.....	31
Nature et rôle de l'acidité digestive des Invertébrés d'après les auteurs	37
Recherches personnelles.....	38
CHAPITRE IV. — Etude de la protéolyse chez quelques types d'Inver- tébrés.....	43
I. Crustacés décapodes.....	43
Action protéolytique.....	45
Recherches personnelles sur la digestion protéolytique des Crustacés	47
Sensibilité du suc digestif à l'acide et à l'alcali.....	49
Etude de l'action hydrolytique	49
Valeur digestive comparée d'après la nature du milieu d'action du suc digestif de <i>Maja</i> et de la pepsine	50
Action du suc digestif de <i>Maja</i> sur diverses matières pro- téiques.....	53
Action du suc digestif de <i>Maja</i> sur la caséine, après des temps variables à la même température.....	55
Action du suc digestif de <i>Maja</i> sur la caséine à diverses tem- pératures.....	57
Action hydrolytique comparée de divers suc digestifs de Crustacés sur les matières protéiques.....	57
II. Mollusques céphalopodes	62
Action protéolytique.....	66

	Pages
Recherches personnelles sur les ferments protéolytiques des Mollusques céphalopodes.....	67
Etude du milieu d'action.....	68
Valeur digestive comparée du suc de <i>Loligo</i> et de la pepsine, d'après la nature du milieu d'action.....	69
Action du suc digestif de <i>Sepia</i> sur diverses matières protéiques.....	72
Action du suc digestif de <i>Loligo</i> sur diverses matières protéiques.....	74
Action du suc digestif de <i>Sepia</i> sur la caséine après des temps variables.....	74
Action de la température sur la digestion protéolytique du suc digestif de <i>Sepia</i>	74
Rôle du cæcum des Céphalopodes.....	77
Recherches personnelles.....	80
Dosages comparés des produits digestifs dans le foie et dans le cæcum.....	82
III. Mollusques gastéropodes.....	84
Action protéolytique chez <i>Helix</i>	85
Recherches personnelles chez <i>Helix</i>	86
Etude de l'action protéolytique.....	86
Action protéolytique chez <i>Aplysia</i>	87
Recherches personnelles chez <i>Aplysia</i>	88
IV. Annélides chétopodes.....	90
Action protéolytique.....	95
Recherches personnelles.....	96
Action sur diverses matières protéiques.....	97
Action sur la caséine après des temps variables.....	99
CHAPITRE V. — Recherches sur l'action éreptique (COHNHEIM) ou peptolytique (ABDERHALDEN).....	101
Recherches sur les ferments éreptiques des tissus.....	106
CHAPITRE VI. — Présure.....	109
I. La présure des Invertébrés.....	109
Etude de l'action présurante.....	110
Etude du phénomène digestif.....	111
La présure des Invertébrés est toujours associée à un ferment à processus tryptique.....	113
II. Propriétés de la présure des Invertébrés.....	116
Action de la température sur le pouvoir présurant du suc chauffé.....	116
Coagulation du lait chauffé à diverses températures.....	116
Etude comparée des présures de HANSEN, peptique, pancréatique de <i>Maja</i> au point de vue de leur vitesse de coagulation du lait chauffé.....	117
Action comparée de la chaleur sur des présures d'origines diverses.....	118

	Pages
Action de la présure de <i>Maja</i> sur le lait acidifié par l'acide chlorhydrique	119
Action de diverses présures sur le lait sensibilisé par le barbotage de l'acide carbonique.....	120
Coagulation du lait normal par diverses présures préalablement soumises à l'influence de l'acide ou de l'alcali.....	121
III. Sur l'identité du ferment protéolytique et de la présure.....	122
Recherches personnelles.....	124
CHAPITRE VII. — Destination des produits de la digestion protéolytique. Leur présence dans le foie.....	129
Recherches personnelles.....	132
RÉSUMÉ GÉNÉRAL ET CONCLUSIONS.....	137

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Botanique. — La reproduction sexuée chez les Algues brunes.

Géologie. — Les Dunes littorales et leur fixation.

Vu et approuvé :

Paris, le 23 janvier 1911,

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES,
PAUL APPELL.

Vu et permis d'imprimer :

LE VICE-RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS, -
L. LIARD.

